



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Flavio Augusto Rocha Barbosa

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS SELENOÉSTERES
DERIVADOS DE DIIDROPIRIMIDINONAS COMO
POTENCIAIS FÁRMACOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA
DE ALZHEIMER**

Florianópolis
2015

Flavio Augusto Rocha Barbosa

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS SELENOÉSTERES
DERIVADOS DE DIIDROPIRIMIDINONAS COMO
POTENCIAIS FÁRMACOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA
DE ALZHEIMER**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a
obtenção do Grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga.

Coorientador: Dr. Rômulo Faria Santos Canto

**Florianópolis
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Barbosa, Flavio Augusto Rocha

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS SELENOÉSTERES DERIVADOS DE
DIIDROPYRIMIDINONAS COMO POTENCIAIS FÁRMACOS NO TRATAMENTO
DA DOENÇA DE ALZHEIMER / Flavio Augusto Rocha Barbosa ;
orientador, Antonio Luiz Braga ; coorientador, Rômulo Faria
Santos Canto. - Florianópolis, SC, 2015.

152 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Diidropirimidinonas. 3. Compostos
Organosselênio. 4. Doença de Alzheimer. 5. Antioxidante. I.
Braga, Antonio Luiz. II. Canto, Rômulo Faria Santos. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Química. IV. Título.

Flavio Augusto Rocha Barbosa

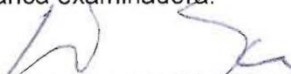
**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS SELENOÉSTERES
DERIVADOS DE DIIDROPIRIMIDINONAS COMO
POTENCIAIS FÁRMACOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA
DE ALZHEIMER**

Esta Dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis-SC, 27 de Julho de 2015.


Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Programa

Banca examinadora:


Prof. Dr. Antonio Luiz Braga - UFSC (Orientador)


Prof. Dr. Antônio Carlos Jouseff - UFSC


Prof. Dr. Marcelo de Godoi - FURG


Prof. Dr. Marcelo Farina - UFSC


Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti – UFSC (Suplente)

Aos meus pais Jocélia e Nelson, minha irmã
Sabrina e minha amada Michele, as luzes
que iluminam o meu caminho.

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Braga por permitir que me juntasse ao seu grupo de pesquisa, pela orientação e por todo conhecimento transmitido.

Ao meu co-orientador Rômulo, pelo conhecimento transmitido, incentivo e acima de tudo pela amizade desenvolvida nesses três anos de convívio na bancada e fora dela.

Aos membros antigos e atuais do LabSelen pelo convívio diário: Luana, Manuela, Frizon, Cabelo, Juliano, Gian, Jesus, Sóbis, Laís, Bruna, Marcos Sheide, Marcos Maragno, Cirilo, Breno, Natasha, Jamal, Igor e André.

Um agradecimento especial à Sumbal e Vanessa pela realização dos testes biológicos presentes neste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida, à UFSC e ao INCT pelos auxílios.

Aos funcionários da Central de Análises e do CEBIME.

Ao Jadir e Greice da Secretaria da Pós-Graduação.

Aos membros da banca examinadora, os Professores Antônio Joussef, Marcelo Farina, Marcelo Godoi e Moacir Pizzolatti, por aceitarem o convite e disporem seu tempo para avaliar este trabalho.

Aos meus amados pais Jocélia e Nelson pelo incentivo ao estudo e pela educação que me deram. Por todo amor, carinho, suporte e dedicação em todos os momentos. Muito Obrigado!

À minha irmã Binoca, pelo carinho, incentivo e força em todos os momentos.

À minha flor de maracujá Michele, por todo amor, carinho e apoio. Obrigado pelas sugestões no trabalho e pela paciência. Obrigado por tudo minha gatona, te amo!!!

À todos que participaram direta ou indiretamente deste trabalho.

Resumo

Título: Síntese e avaliação de novos selenoésteres derivados de diidropirimidinonas como potenciais fármacos no tratamento da doença de Alzheimer.

Autor: Flavio Augusto Rocha Barbosa

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga

Co-Orientador: Dr. Rômulo F. S. Canto

O presente trabalho descreve a síntese e avaliação de selenoésteres derivados de diidropirimidinonas (DHPM) como potenciais fármacos no tratamento da doença de Alzheimer. A série de selenoésteres foi sintetizada através de uma rota sintética modular e apresenta alta diversidade estrutural com rendimentos moderados. Os selenoésteres tiveram sua atividade antioxidante avaliada por diferentes ensaios, como inibição da peroxidação lipídica e atividades quelante de ferro e GPx-like. Além disso, foi avaliada a capacidade dos compostos como inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE).

Os compostos apresentaram atividade antioxidante em todos os ensaios, inibindo de forma eficiente a peroxidação lipídica, atuando como bons agentes quelantes de Ferro (II) e também apresentando potencial como miméticos da enzima GPx. Somando-se a atividade antioxidante, os compostos apresentaram atividade inibidora da enzima AChE, sendo alguns deles superiores ao fármaco galantamina.

Em suma, foi obtida uma série de seleno-DHPM com alto valor agregado e grande potencial para aplicação como fármacos com ação antioxidante e anticolinesterásica para o desenvolvimento de agentes multi-alvo aplicáveis no tratamento da doença de Alzheimer.

Palavras-chave: selenoésteres, diidropirimidinonas, antioxidante, anticolinesterase, AChE, Alzheimer, selênio.

Abstract

Title: Synthesis and evaluation of new selenoesters derived from dihydropyrimidinones as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease.

Author: Flavio Augusto Rocha Barbosa

Advisor: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga

Co-Advisor: Dr. Rômulo F. S. Canto

The present work describes the synthesis and evaluation of selenoesters derived from dihydropyrimidinones as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. A series of selenoesters were obtained with high structural diversity in moderate yields through a short and modular synthetic route. The antioxidant activity was evaluated by TBARS assay, iron chelation assay and *GPx-like* activity. The compounds were also evaluated as acetylcholinesterase inhibitors (AChEi).

Overall, the compounds demonstrated good antioxidant activity, since they presented excellent lipid peroxidation inhibition, good iron chelation activity and also potential as glutathione peroxidase mimetics. In addition, the compounds showed acetylcholinesterase inhibitory activity and some of them presented superior activity than the standard drug galantamine.

Therefore, the series of seleno-dihydropyrimidinones herein described displayed a great potential for the development of antioxidant and anticholinesterasic agents in the search for new multi-targeted therapeutics in the treatment of Alzheimer's disease.

Keywords: selenoesters, dihydropyrimidinones, antioxidant, anticholinesterase, AChE, Alzheimer, selenium.

Listade Abreviaturas

DHPM	Diidroprimidinona (s)
GPx	Glutathione Peroxidase
AChE	Acetilcolinesterase
AChEi	Inibidor da Acetilcolinesterase
DA	Doença de Alzheimer
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de carbono
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
Aβ	β-amilóide
ACh	Acetilcolina
FDA	<i>Food and drug administration</i>
HTS	<i>High Throughput screening</i>
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
ROS	Espécies reativas de oxigênio
THC	Tetraidrocurcuminóides
GSH	Glutathione
Trp	Triptofano
Gln	Glutamina
Sec	Selenocisteína
GSSG	Glutathione oxidada
TBP	Peróxido de terc-butila
DTBP	Peróxido de di-terc-butila
J	Constante de acoplamento
PPM	Partes por milhão
TBA	Ácido tiobarbitúrico

P.F.	Ponto de fusão
HRMS	Espectroscopia de massas de alta resolução
CCD	Cromatografia em camada delgada
APPI	Fotoionização à temperatura ambiente
APCI	Ionização química à temperatura ambiente
MDA	Malondialdeído
DPDS	Disseleneto de difenila
BHT	Hidróxitolueno butilado
ANOVA	Análise de variância
Ebs	Ebselen
IV	Infravermelho

Sumário

1. Introdução.....	19
2. Objetivos	21
3. Revisão da literatura	22
3.1. Doença de Alzheimer	22
3.2. Reação de Biginelli.....	24
3.3. Atividades biológicas das DHPM.....	26
3.4. Atividade antioxidante das DHPM	28
3.5. Atividade anticolinesterásica das DHPM	30
3.6. Compostos orgânicos contendo selênio	31
3.7. Atividade antioxidante de compostos organosselênio	34
3.8. Compostos organosselênio e a doença de alzheimer.....	38
3.9. Síntese de selenoésteres	40
4. Resultados e discussão	44
4.1. Síntese das 6-Cloro-Diidropirimidinonas.....	44
4.2. Síntese dos selenoésteres	49
4.3. Tentativa de isolamento do selenocarboxilato	57
4.4. Síntese do tioéster	59
4.5. Síntese do disseleneto	61
4.6. Avaliação da inibição da peroxidação lipídica.....	64
4.7. Avaliação da atividade quelante de ferro	70
4.8. Avaliação da atividade anticolinesterásica.....	73
4.9. Avaliação da atividade GPx-like	76
5. Considerações finais, conclusões e perspectivas...	79
6. Experimental.....	80

6.1.	Solventes e reagentes	80
6.2.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono	80
6.3.	Espectrometria de massas de alta resolução	81
6.4.	Ponto de fusão	81
6.5.	Rotaevaporadores	81
6.6.	Espectroscopia na região do infravermelho	81
6.7.	Procedimento geral para a síntese das 6-cloro- diidropirimidinonas	81
6.8.	Procedimento geral para a síntese dos selenoésteres	85
6.9.	Procedimento geral para a síntese do tioéster	91
6.10.	Procedimento geral para a síntese do disseleneto	92
6.12.	Extração dos fosfolipídeos para o ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	94
6.13.	Ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	94
6.14.	Atividade quelante de ferro	95
6.15.	Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase ..	95
6.16.	Avaliação da atividade <i>GPx-like</i>	96
6.17.	Seção de espectros	97
7.	<i>Referências bibliográficas</i>	138

1. Introdução

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa progressiva que atinge milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente idosos acima de 85 anos de idade. Os principais sintomas da doença são a perda gradual da memória, alterações no humor e personalidade. A fisiopatologia da DA é complexa e vários fatores parecem estar envolvidos, como déficit colinérgico, estresse oxidativo e excesso de metais no cérebro doente. Desta forma, uma terapia que atue somente em um alvo terapêutico tem se mostrado ineficiente. Consequentemente, o desenvolvimento de fármacos multi-alvo para doenças neurodegenerativas como a DA é uma estratégia moderna na busca por um tratamento (GELDENHUYS et al., 2011).

Os compostos organosselênio são amplamente conhecidos por mimetizar a enzima Glutathione Peroxidase (GPx), desta forma, estes compostos atuam na neutralização de espécies reativas de oxigênio, desempenhando um papel antioxidante em sistemas biológicos. Além de antioxidantes, esta classe de compostos também apresenta atividade neuroprotetora e moduladora do sistema colinérgico.

Assim como os compostos organosselênio, as 3,4-diidropirimidinonas (DHPM) são estruturas privilegiadas e também apresentam elevada importância farmacológica. As DHPM se mostram eficientes em diversos ensaios biológicos, dentre os quais, podem ser citadas as atividades antioxidante e anticolinesterásica.

Recentemente, em nosso grupo de pesquisa foi explorada uma série de seleno-DHPM com a função selenocianato (CANTO et al., 2014), as quais demonstraram excelente atividade antioxidante, quelante de ferro e também anticolinesterásica. Entretanto, selenocianatos podem vir a apresentar problemas quando aplicados em sistemas biológicos, pois na sua transformação para o grupo selenol, um grupo cianeto poderá ser liberado no organismo, o qual pode apresentar toxicidade.

Desta forma, o trabalho prévio abriu caminho para a exploração das mesmas moléculas plataforma com diferentes

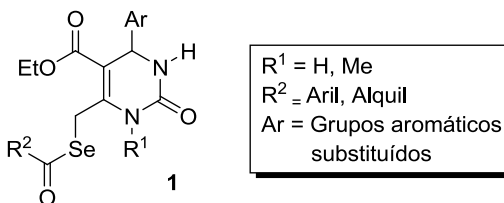
grupos funcionais contendo selênio, como selenoésteres, os quais devem gerar metabólitos menos tóxicos em sistemas biológicos.

Neste contexto, visto que compostos organosselênio e DHPM são classes de compostos biologicamente ativos, com potencial aplicação no tratamento da DA quando analisadas individualmente, a junção das duas classes de compostos é uma estratégia atraente para o desenvolvimento de novos agentes multi-alvo para o tratamento da DA.

2. Objetivos

O objetivo geral do presente trabalho foi o planejamento, síntese e avaliação antioxidante e anticolinesterásica de uma série de seleno-DHPM do tipo **1** contendo a função selenoéster. Estas moléculas são inéditas, não havendo relatos prévios na literatura.

Figura 1 - Estrutura geral das moléculas a serem sintetizadas no trabalho.



Os objetivos específicos do trabalho são:

- Sintetizar uma série de DHPM as quais serão utilizadas como materiais de partida para a inserção do grupamento contendo selênio.
- Sintetizar uma série de DHPM funcionalizadas com o grupamento selenoéster.
- Caracterizar os compostos sintetizados por Espectroscopia de RMN de ¹H, ¹³C, Infravermelho, Espectrometria de Massas e outras técnicas quando necessário.
- Avaliar a atividade antioxidante e anticolinesterásica dos compostos sintetizados pelos ensaios: Ensaio TBARS, Atividade quelante de Ferro, atividade Tiol Peroxidase, e inibição da enzima acetilcolinesterase (obtida de Enguia).
- Publicar os trabalhos em periódicos reconhecidos pela comunidade científica e/ou publicá-los na forma de patente.

3. Revisão da literatura

3.1. Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA), ou mal de Alzheimer, é a principal causa de demência no mundo. É uma doença neurodegenerativa progressiva que afeta principalmente indivíduos com idade acima de 85 anos e é caracterizada por causar perda da memória, alteração cognitiva, desorientação e alterações no humor (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2014).

Estima-se que 34,4 milhões de pessoas são acometidas da doença no mundo todo, e isto leva a um enorme impacto econômico. Wimo e colaboradores (WIMO; WINBLAD; JÖNSSON, 2010) estimaram que os gastos globais com esta doença passaram de U\$315 bilhões em 2005 para U\$422 bilhões em 2009.

A doença apresenta uma fisiopatologia complexa, e a sua causa não é completamente compreendida, entretanto, os principais indicadores para o diagnóstico da doença são a formação de depósitos extracelulares da proteína β -amilóide ($A\beta$) no cérebro, também conhecidos como placas senis (HARDY; SELKOE, 2002) e a formação de emaranhados neurofibrilares contendo a proteína tau (MACCIONI et al., 2010). Várias hipóteses para sua causa e progressão são levantadas (AN et al., 2008) e dentre elas as principais são a Hipótese Colinérgica, Hipótese Metálica, e a Hipótese Oxidativa.

A hipótese colinérgica é baseada no déficit do neurotransmissor acetilcolina (ACh) no cérebro de pacientes acometidos pela DA (FRANCIS et al., 1999), com base nisso vários agentes farmacológicos como a Tacrina (KAUFER; CUMMINGS; CHRISTINE, 1996), Donepezil (GAUTHIER et al., 2002) e a Galantamina (KAVANAGH et al., 2011) foram desenvolvidos visando o aumento da quantidade de acetilcolina na fenda sináptica via inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), a qual é responsável por hidrolisar a acetilcolina à colina e ácido acético. Estes fármacos inibidores da AChE são frequentemente chamados de AChEi.

Outra hipótese para a doença de Alzheimer é a hipótese do estresse oxidativo, a qual é baseada nas evidências de que o cérebro doente apresenta elevados níveis de espécies reativas de oxigênio, que pode ser atribuído a um funcionamento anormal das mitocôndrias, que por sua vez produzem mais O_2^- levando a um aumento da concentração de H_2O_2 no citoplasma, e assim, podendo levar a degeneração celular e a morte neuronal observada na DA (MARKESBERY, 1997).

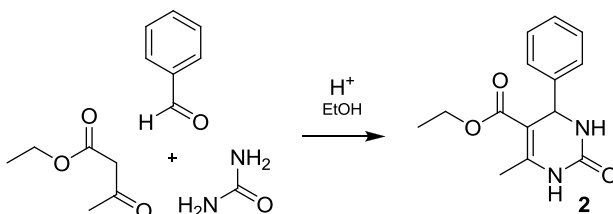
Há evidências mostrando que metabólitos da peroxidação lipídica podem causar uma aceleração na deposição de placas senis, o que é sabido ser peça essencial na evolução da DA (BIESCHKE et al., 2005). Sobrepondo-se a isso, o cérebro apresenta um alto teor lipídico e alta demanda por oxigênio, o que o torna um órgão altamente suscetível aos danos da peroxidação lipídica causados pelo estresse oxidativo. Desta forma, reduzir o estresse oxidativo é mais uma estratégia na busca por fármacos para a DA (FENG; WANG, 2012; FANG et al., 2008; FERNÁNDEZ-BACHILLER et al., 2012; RODRÍGUEZ-FRANCO et al., 2006; ROSINI et al., 2005).

A hipótese metálica é baseada no fato de que níveis elevados de metais como ferro (Fe), cobre (Cu) e zinco (Zn) no cérebro, levam a danos celulares e à aceleração na agregação e deposição das placas senis (BUSH; TANZI, 2008). O excesso de metais leva a formação demasiada de espécies reativas de oxigênio pela reação de Fenton, e estas espécies por sua vez, levam a danos como peroxidação lipídica, modificações protéicas, e alterações no DNA, levando em última instância a morte neuronal (OBULESU; VENU; SOMASHEKHAR, 2011). O fármaco clioquinol é um exemplo que tem sido utilizado como um agente quelante de metais Zn e Cu, sendo capaz de diminuir a deposição de placas A β em camundongos com a DA (CHERNY et al., 2001). Desta forma, a diminuição dos níveis destes metais também aparece como uma estratégia para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da DA.

3.2. Reação de Biginelli

A síntese das diidropirimidinonas (DHPM) foi primeiramente descrita por Pietro Biginelli (1860 – 1937) um químico italiano, que em 1893 realizou a síntese desta classe de compostos através de uma reação multicomponente entre aldeídos aromáticos, um composto dicarbonílico, e uréia, levando à formação dos compostos do tipo **2** (Figura 2) (BIGINELLI, 1893). Esta classe de heterocíclon vem sendo de grande importância para a química orgânica e medicinal (TRON; MINASSI; APPENDINO, 2011).

Figura 2 - Síntese das DHPM por P. Biginelli



Biginelli relatou a síntese das diidropirimidinonas sob catálise ácida e aquecimento em uma solução etanólica em refluxo, entretanto, seus produtos eram obtidos com baixos rendimentos e necessitavam de um longo tempo reacional, o que dificultava a obtenção das DHPM. Entretanto, nas últimas décadas vários estudos demonstram que as DHPM podem ser obtidas com excelentes rendimentos e em tempos reacionais curtos através da utilização de catalisadores como ácidos de Lewis (SHARGHI; JOKAR, 2009b) e Brønsted (CANTO et al., 2011), e inclusive em líquidos iônicos e sob irradiação de micro-ondas (SRIVASTAVA, 2013).

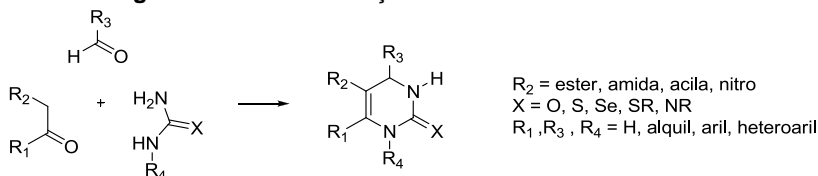
A reação de Biginelli realmente tem sido bastante explorada, principalmente no desenvolvimento de novas metodologias empregando catalisadores, os quais muitas vezes são bastante caros. Kolosov *et al* em 2009 mostraram que o uso de catalisadores pode ser considerado até

desnecessário, uma vez que em seu trabalho, as DHPM foram obtidas utilizando NaCl como “catalisador”. Os autores ainda classificam o catalisador como placebo (KOLOSOV et al., 2009). Entretanto, recentemente, Alvim e colaboradores (ALVIM et al., 2014) demonstraram através de experimentos e cálculos teóricos que a utilização de um catalisador na reação é muito importante, não só em termos de facilitação de formação do produto, mas também na condução por determinado mecanismo reacional.

Além de sua importância puramente química, as DHPM são uma classe de compostos que tem uma elevada importância na química medicinal, uma vez que a sua síntese leva a obtenção de moléculas complexas e com ampla variedade estrutural devido ao fato de que podem ser utilizados diferentes aldeídos aromáticos ou alifáticos; uréias, tiouréias, isotiouréias, e ainda selenouréias; e o componente dicarbonílico pode ser variado entre β -cetoésteres, 1,3-dicetonas, e nitrocetonas (Figura 3) (KAPPE; STADLER, 2004; KLEIN et al., 2007).

Os heterociclos em questão também são conhecidos por apresentarem várias atividades biológicas que vão desde antiproliferativa (RUSSOWSKY et al., 2006) até inibidores da enzima acetilcolinesterase (ARUNKHAMKAEW et al., 2013). Esta classe de heterociclos frequentemente aparece em vários fármacos registrados pelo FDA (Food and Drug Administration) (TAYLOR; MACCOSS; LAWSON, 2014), podendo desta forma, serem considerados núcleos biologicamente privilegiados, o que encoraja sua preparação e modificação.

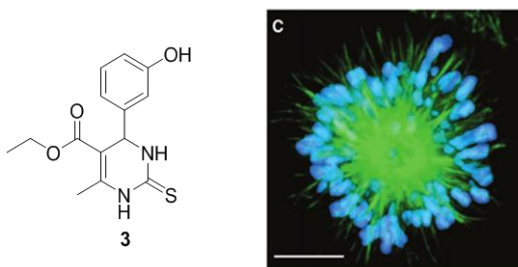
Figura 3 - Possível variação estrutural nas DHPM



3.3. Atividades biológicas das DHPM

As DHPM são amplamente conhecidas pela sua ação antitumoral. O primeiro representante da classe a apresentar tal atividade foi o Monastrol **3** descoberto em um HTS (*High Throughputscreening*), ou seja, uma triagem de alta produtividade, no qual foram testadas 16,320 moléculas e apenas esta molécula teve o efeito inibitório seletivo sobre uma enzima que atua especificamente no ciclo celular, a Cinesina Eg5 ($IC_{50}=30\mu M$) (MAYER, 1999). Devido ao fato de a enzima Eg5 estar atuante somente durante a divisão celular, o monastrol exibe uma excelente seletividade, atuando somente nas células em mitose. A inibição da Eg5 promove a formação incorreta do fuso mitótico, levando a um fuso com fenótipo monoastral (em forma de estrela) no qual é perdida a bipolaridade essencial do fuso para a divisão celular (Figura 4-c).

Figura 4 - Estrutura do Monastrol e o fenótipo monoastral após o tratamento (Adaptado de MAYER, 1999.)



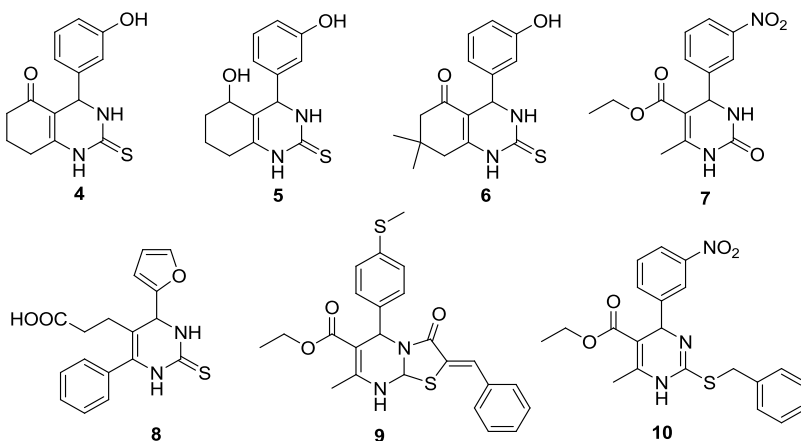
Desde a descoberta do Monastrol vários análogos foram sintetizados e avaliados a fim de verificar possíveis atividades inibitórias semelhantes (KLEIN et al., 2007; RUSSOWSKY et al., 2006). Nestes estudos, alguns análogos mostraram-se de 5 a 30 vezes mais potentes que o monastrol. Outros exemplos são os análogos bicíclicos (Figura 5) Enastron **4**, Enastrol **5** ambos com $IC_{50}=2\mu M$, e Dimetilenastron **6** o qual mostrou-se o mais potente com um IC_{50} de 200 nM sendo assim, mais de

100 vezes mais potente que o monastrol (GARTNER et al., 2005).

Outros trabalhos mostram que oxo-DHPM também apresentaram atividades pronunciadas, um exemplo é a DHPM **7** a qual se mostrou duas vezes mais potente que o monastrol (CANTO et al., 2011). Em uma continuação do prévio trabalho, Figueiró e colaboradores (FIGUEIRÓ et al., 2014) mostraram que a atividade citotóxica da DHPM **7** não ocorre pela inibição da Eg5, mas se dá pela inibição da enzima Ecto-5'-nucleotidase, a qual exerce um efeito protetor na célula cancerígena.

As DHPM também são conhecidas por apresentarem várias outras atividades biológicas (KAPPE, 2000). Na Figura 5 podem ser observadas algumas estruturas de DHPM que apresentaram atividades como anti-inflamatória **8**, antibacteriana **9**, anti-hipertensiva **10** (SANDHU, 2012).

Figura 5 - DHPM e derivados que apresentam atividades biológicas relevantes



3.4. Atividade antioxidante das DHPM

Recentemente muito vem sendo investigado a respeito da atividade antioxidante das DHPM, desta forma diversas DHPM são reportadas como potentes antioxidantes, avaliados por diferentes testes como DPPH, Atividade quelante de Ferro, pelo ensaio TBARS, e também agindo como *scavengers* de radicais livres.

Stefani e colaboradores (STEFANI et al., 2006) reportaram a síntese de uma série de DHPM, na qual, as DHPM **11** e **12** (Figura 6) apresentaram os melhores resultados como antioxidantes inibindo a peroxidação lipídica e também diminuindo os níveis de ROS, os autores comprovam ainda que as DHPM não apresentam atividade GPx-like.

Vasconcelos e colaboradores (VASCONCELOS et al., 2012) também relataram que as DHPM **13** e **14** apresentaram atividade de moderada a alta na inibição da peroxidação lipídica e também no teste do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Seguindo a mesma linha, Youssef e Amin sintetizaram e avaliaram a atividade antioxidante de DHPM e seus derivados, e constataram que os derivados tiazolopirimidínicos **15** e **16** demonstraram os melhores resultados na inibição da peroxidação lipídica (YOUSSEF; AMIN, 2012).

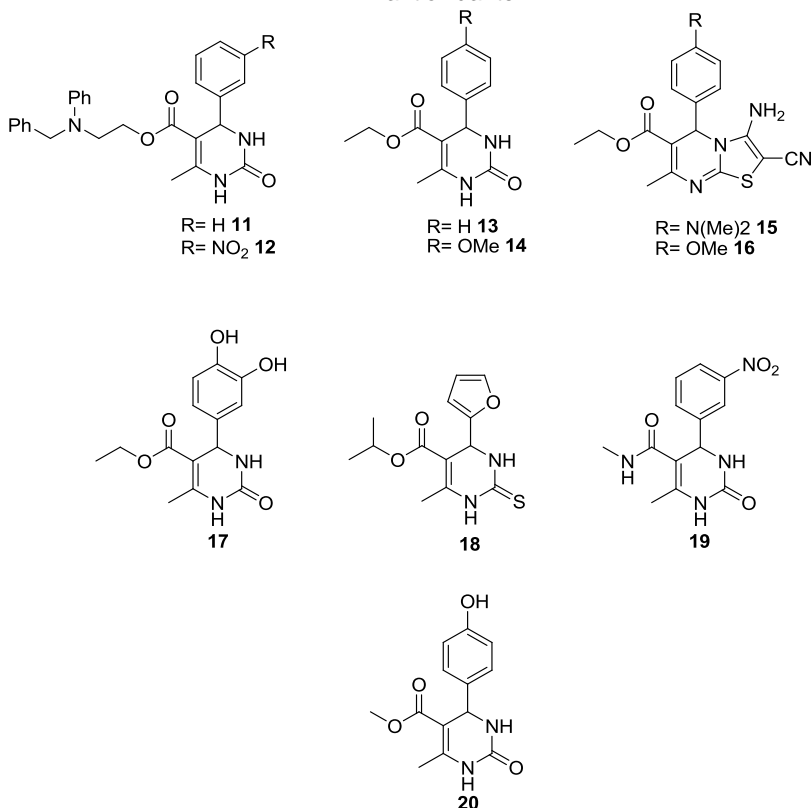
A DHPM **17** demonstrou sua atividade antioxidante como scavenger de radicais como DPPH e também de ROS, sendo mais ativa que o padrão resveratrol (DA SILVA et al., 2012).

Mansouri *et al* (MANSOURI et al., 2012) publicaram a síntese e avaliação de uma série de 4-furil-DHPM e mostraram que a estrutura **18** apresenta atividade relevante nos testes DPPH com IC₅₀ na ordem de 0,6 mg/ml, entretanto, muito inferior ao padrão ácido gálico.

A DHPM **19**, sintetizada por Kumar e colaboradores foi a mais ativa no teste do DPPH dentre uma série de 32 compostos, e apresentou um IC₅₀ na faixa de 63 µg/ml (PRASHANTHA KUMAR et al., 2009).

A atividade quelante de ferro também é atribuída as DHPM, como a molécula **20** que além da capacidade scavenger de radicais DPPH e apresentar moderada atividade de poder redutor, mostrou-se a mais ativa da série como quelante de Fe^{2+} com um EC_{50} de $0,79\mu\text{g/ml}$ (GANGWAR; KASANA, 2012).

Figura 6 - Estruturas de DHPM e derivados com atividade antioxidante.



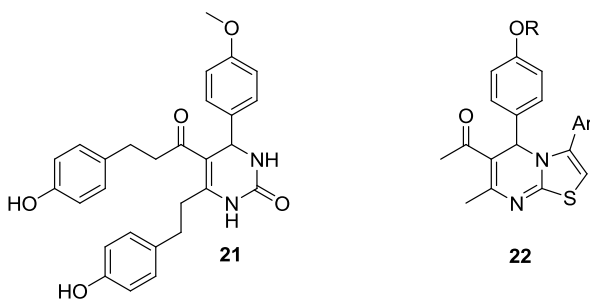
3.5. Atividade anticolinesterásica das DHPM

As DHPM também são reportadas como inibidores da enzima acetilcolinesterase, o que somado a atividade antioxidante torna este tipo de heterociclo muito atraente para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer.

Recentemente, Arunkhamkaew e colaboradores (ARUNKHAMKAEW et al., 2013) planejaram e sintetizaram uma série de híbridos DHPM-tetraidrocurcuminóides, uma estratégia interessante, uma vez que os Tetraidrocurcuminóides (THC) também apresentam propriedades antioxidantes e anticolinesterásicas. No estudo realizado, o híbrido THC-DHPM que apresentou maior atividade inibitória foi o composto **21** (Figura 7), com um IC₅₀ com valor de $1.34 \pm 0.03 \mu\text{M}$, menor que o do fármaco padrão Galantamina (IC₅₀ = $1.45 \pm 0.04 \mu\text{M}$).

Tiazolopirimidinas derivadas de DHPM apresentando estrutura do tipo **22** foram sintetizadas por Zhi et al. (ZHI et al., 2013). No trabalho, uma série de oito tiazolopirimidinas foram avaliadas quanto à sua capacidade inibitória frente à enzima acetilcolinesterase. Todos os compostos apresentaram atividade inibitória, entretanto todos abaixo do padrão Brometo de Neostigmina.

Figura 7 – DHPM e derivado que apresentam atividade anticolinesterásica.

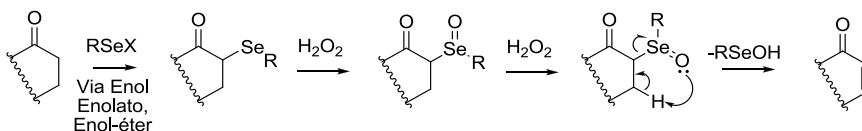


3.6. Compostos orgânicos contendo selênio

O selênio foi descoberto em 1817 por Jöns Jakob Berzelius e seus derivados por muito tempo foram considerados substâncias venenosas, ou ainda compostos com elevada toxicidade (SANTI et al., 2013). Entretanto, desde 1957 com a descoberta de que o selênio age como um preventivo da degeneração necrótica do fígado de aves e mamíferos (SCHWARZ; FOLTZ, 1957) muito vem sendo pesquisado e compreendido acerca deste átomo, principalmente sua importância como micronutriente e sua aplicação na química medicinal.

Na síntese orgânica, o principal método sintético envolvendo o selênio é a reação de olefinação via eliminação de selenóxido (SHARPLESS; LAUER; TERANISHI, 1973) (Figura 8) na qual é possível a formação de carbonilas α,β -insaturadas. A reação se processa via uma eliminação do tipo *syn*, na qual, no estado de transição o selenóxido deve estar co-planar ao hidrogênio em β para que haja a eliminação.

Figura 8 - Reação de Eliminação de selenóxidos



O papel biológico do selênio começou a ser explorado a partir da descoberta de que o mesmo faz parte da enzima Glutathione Peroxidase (GPx) (FLOHE; GUNZLER; SCHOCK, 1973). Trinta anos depois, Kryukov e colaboradores (KRYUKOV et al., 2003) reportam todo o selenoproteoma humano e que este é composto por 25 selenoproteínas. Estas proteínas contêm o selênio na forma de um resíduo de selenocisteína (Sec) em sua estrutura, o qual é inserido após a tradução da proteína.

Do ponto de vista medicinal, há muito tempo o selênio vem sendo utilizado como agente antifúngico no tratamento da dermatite seborréica e caspa intensa, sendo o princípio ativo de shampoos como Selsun Ouro® (SMITH; EASTMAN; NJARDARSON, 2014).

Todavia, a principal atividade atribuída ao selênio no organismo é a sua atividade antioxidante, a qual é dada através da presença de um átomo de selênio no sítio ativo de enzimas antioxidantes, como a Tioredoxina Redutase pertencente à família das Tioredoxinas (TrX) (MUSTACICH; POWIS, 2000) e as enzimas da família Glutathiona Peroxidase (GPx), as quais possuem a capacidade de reduzir espécies reativas de oxigênio (EROs) como hidroperóxidos à água as expensas de glutathiona (GSH) como mostrado na equação reacional no Esquema 1.

Esquema1- GSH como substrato da GPx para redução de EROs

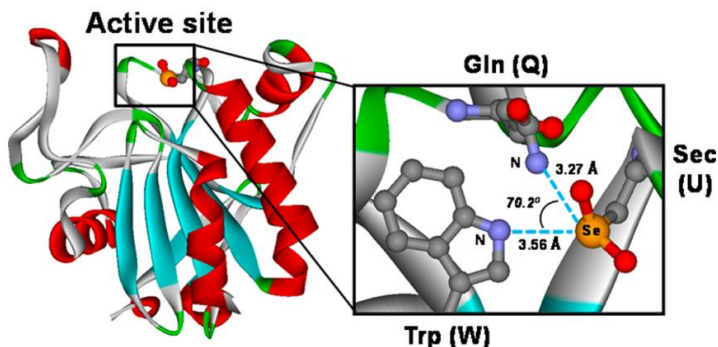


Atualmente são conhecidas cinco selenoenzimas pertencentes à família das GPx e estas encontram-se intra- ou extracelularmente, diferindo em local e função que exercem no organismo. As isoenzimas intracelulares são: GPx1, a qual é encontrada no citosol; a GPx2 é encontrada no epitélio gastrointestinal; a GPx4 é encontrada junto às membranas celulares inibindo a peroxidação lipídica; a GPx6 foi a última da família a ser identificada e é encontrada em estágios embrionários de mamíferos e no epitélio olfatório. A única isoenzima extracelular é a GPx3 sendo esta encontrada no plasma, provendo proteção aos fluidos extracelulares (KRYUKOV et al., 2003; RAYMAN, 2012).

O átomo de selênio nestas enzimas é estabilizado por outros dois resíduos de aminoácidos, triptofano(Trp) e glutamina (Gln), formando assim uma tríade catalítica composta pelos resíduos de Sec (U), Trp (W), e Gln (Q) como

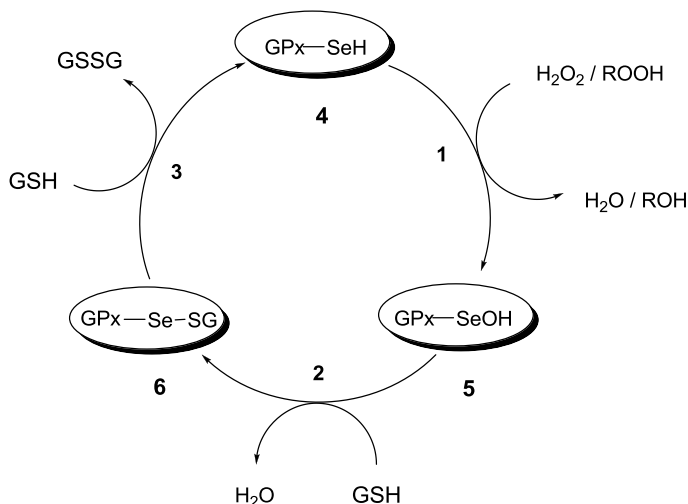
mostrado na Figura 9, a qual mostra o resíduo de Sec na sua forma estável de ácido selenínico (TAKEI et al., 2014).

Figura 9 - Sítio ativo da enzima GPx com a tríade catalítica evidenciada.



Reproduzido de TAKEI et al., 2014

O ciclo catalítico das enzimas GPx é proposto no Esquema 2 e envolve a participação do átomo de selênio da enzima glutathiona peroxidase **4**, na forma de selenol, que reage com hidroperóxidos reduzindo-os à água ou álcool na etapa **1** e formando o ácido selenênico **5**. Este então, na etapa **2** reage com um equivalente de glutathiona para formar o selenosulfeto **6** e liberar água. Na terceira e última etapa do ciclo, um segundo equivalente de glutathiona ataca o selenosulfeto liberando a glutathiona oxidada (GSSG) e regenerando a enzima na sua forma ativa para o ciclo catalítico. No processo global, dois equivalentes de glutathiona são oxidados a dissulfeto e água, enquanto o hidroperóxido é convertido ao álcool correspondente ou água (ORIAN; TOPPO, 2014).

Esquema 2 - Ciclo catalítico da enzima Glutathiona Peroxidase.

Adaptado de ORIAN; TOPPO, 2014

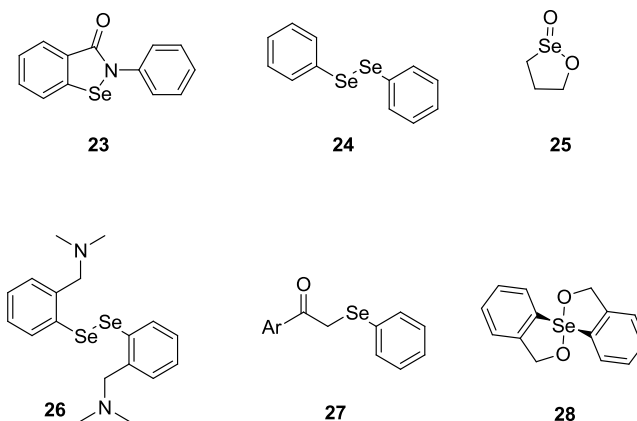
Desde a descoberta de que o selênio é parte essencial das GPx e que desta forma, é um micronutriente essencial ao organismo, vários compostos contendo selênio têm sido sintetizados e testados em diversos sistemas biológicos, dentre eles, os mais famosos representantes são o Ebselen **23** e o disseleneto de difenila **24** (Figura 10). Às moléculas que apresentam atividade antioxidante semelhante as GPx é atribuída a atividade chamada GPx-like devido ao fato de que as mesmas possuem a capacidade de mimetizar a enzima.

3.7. Atividade antioxidante de compostos organosselênio

Mugesh e Bhabak (BHABAK; MUGESH, 2010) classificaram estes compostos com atividade GPx-like em três grandes grupos: as Selenilamidas cíclicas, os Disselenetos de diarila, e ainda os selenetos de arila ou alquila. Aos pertencentes dos grupos das selenilamidas cíclicas e dos disselenetos de diarila são atribuídas várias atividades biológicas, como atividade antioxidante, antiinflamatória e

antitumoral, atividades que são atribuídas a sua capacidade de mimetizar a enzima GPx ou por outros mecanismos de ação (ORIAN; TOPPO, 2014). Na Figura 10 podem ser observadas algumas moléculas que apresentaram atividade GPx-like (BACK, 2009), dentre elas estão os representantes das selenilamidas cíclicas **23**, disselenetos **24** e **26**, seleneto **27**, e além das 3 classes mais conhecidas, o seleninato cíclico **25** e a spirodioxiselenurana **28** também apresentaram atividade GPx-like, sendo melhores catalisadores que o padrão Ebselen.

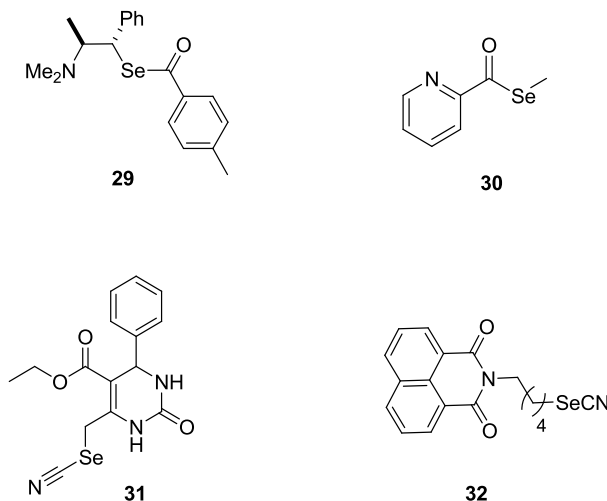
Figura 10 – Estruturas de miméticos da enzima GPx.



Além das classes de miméticos das GPx apresentadas acima, outras classes como selenocianatos (CANTO et al., 2014; GHOSH et al., 2013) e selenoésteres (DOMÍNGUEZ-ÁLVAREZ et al., 2014; SOARES et al., 2012) também vêm demonstrando relevante atividade GPx-like, na Figura 11 são observados alguns exemplos. A molécula **29**, é um derivado da efedrina e exemplo de selenoéster com atividade GPx-like, o composto apresentou atividade aproximadamente 4 vezes superior ao padrão disseleneto de difenila, e os autores atribuem a atividade à facilidade do grupo selenoéster em gerar seu respectivo selenolato. A molécula **30** mostrou

atividade comparável ao padrão disseleneto de difenila como mimético da enzima GPx.

Figura 11 - Exemplos de selenoésteres e selenocianatos com atividade GPx-like.



As moléculas **31** e **32** tratam-se de selenocianatos com atividade antioxidante. O selenocinato **31** apresentou atividade GPx-like superior ao padrão Ph_2Se_2 , e também atividade antioxidante por outros mecanismos de ação. O selenocianato **32**, um derivado isoquinolínico, demonstrou a capacidade de normalizar a depleção da enzima GPx induzida por cisplatina, dentre outros efeitos antioxidantes.

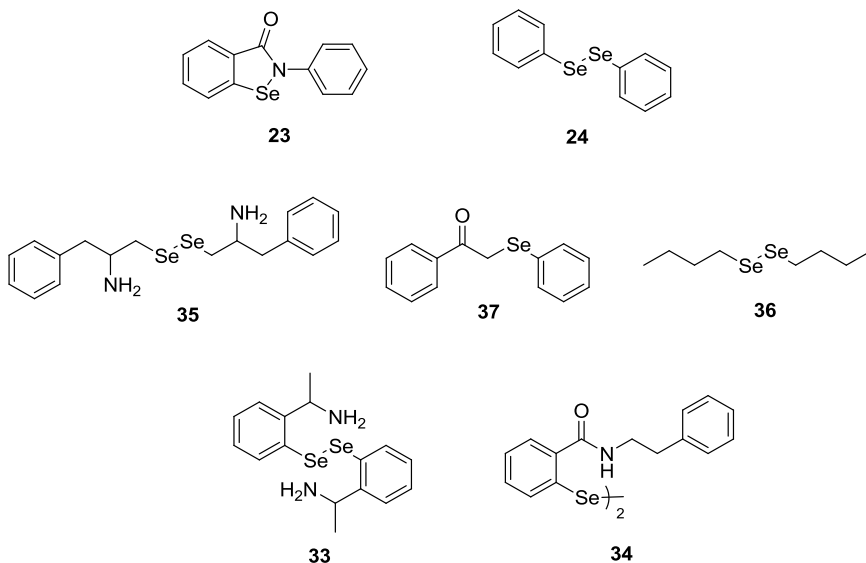
Além da atividade antioxidante atribuída pela capacidade de mimetizar a enzima GPx, os compostos organosselênio também apresentam atividade antioxidante via inibição da peroxidação lipídica, a qual pode ser avaliada *in vitro* pelo teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).

Vários compostos demonstraram-se eficientes em inibir a oxidação lipídica *in vitro* pelo ensaio das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). Na Figura 12 são

mostrados alguns compostos contendo selênio que inibiram a peroxidação lipídica. Além dos famigerados ebselen **23** e disseleneto de difenila **24** (ROSSATO et al., 2002), outros disselenetos aromáticos como os disselenetos **33** e **34** se mostraram mais eficientes que os padrões disseleneto de difenila e ebselen respectivamente (IBRAHIM et al., 2014; NASCIMENTO et al., 2014).

Entretanto, disselenetos alquílicos, como os disseletos **35** e **36** também apresentaram atividade antioxidante (HASSAN et al., 2012; MEOTTI et al., 2004). O seleneto **37** também inibiu a proxidação lipídica induzida por nitroprussiato de sódio de forma eficiente, Gerzson e colaboradores relataram que o composto apresentou um IC₅₀ de 26.5µM (GERZSON et al., 2012).

Figura 12 - Estruturas de compostos organosselênio com atividade antioxidante pelo ensaio TBARS.



3.8. Compostos organosselênio e a doença de alzheimer

Há muito é sabido que o selênio desempenha papel importante em diversos processos biológicos, e inclusive que tem papel fundamental na progressão da doença de Alzheimer (LOEF; SCHRAUZER; WALACH, 2011).

Estudos recentes demonstraram o efeito neuroprotetor do disseleneto de difenila em diferentes modelos de toxicidade neural causados por H_2O_2 (POSSER et al., 2008), e também por metilmercúrio (GLASER et al., 2013). Em ambos os trabalhos, o disseleneto de difenila foi considerado neuroprotetor e teve esta atividade atribuída à sua atividade antioxidante.

Outro disseleneto a apresentar atividade neuroprotetora é o p-metoxi-disseleneto de difenila, o qual trouxe melhora na memória de ratos em modelos *in vivo* da doença de Alzheimer induzida por streptozotocina (PINTON et al., 2013a), o que também pode ser atribuído a sua atividade antioxidante (PINTON et al., 2011). Pinton e colaboradores (PINTON et al., 2013b) demonstraram ainda, que o mesmo disseleneto previniu a morte celular de neurônios induzida por $A\beta$ e atenuou o déficit de memória em camundongos. Outros resultados ainda sugerem que o p-metoxi-disseleneto de difenila iniba a atividade da enzima acetilcolinesterase (PINTON et al., 2010). Entretanto, Zamberlan e colaboradores mostraram um efeito contrário em um modelo de *C. Elegans* da doença de Alzheimer, no qual o Ph_2Se_2 aumentou a atividade da AChE (ZAMBERLAN et al., 2014).

Similarmente ao disseleneto de difenila, o ebselen também demonstrou atividade neuroprotetora em modelo de neurotoxicidade induzida por $A\beta$ (GODOI et al., 2013).

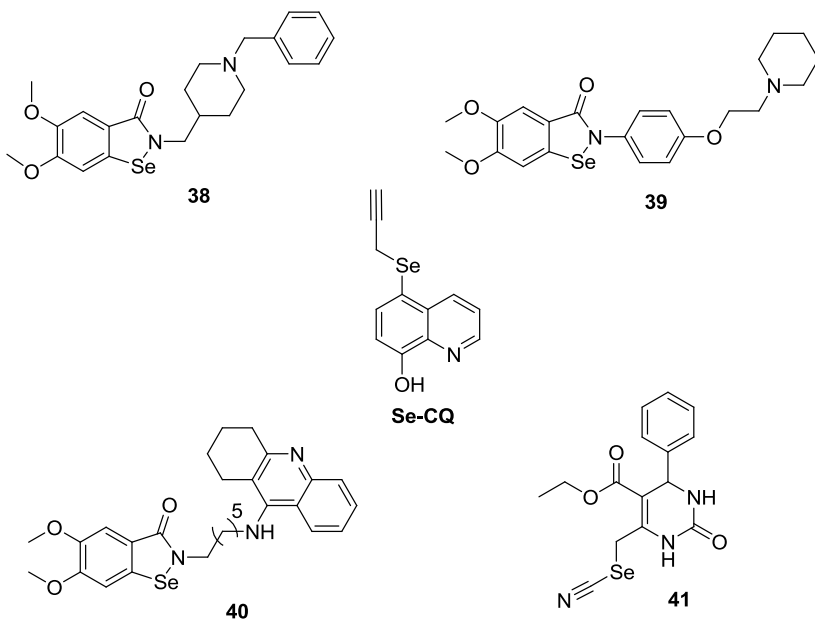
Recentemente, Wang e colaboradores descreveram a síntese de seleno-derivados do clioquinol (**Se-CQ**) (Figura 13) os quais demonstraram ser excelentes antioxidantes e também inibidores da agregação de $A\beta$ induzida por metais (WANG et al., 2014).

Compostos organosselênio também têm sido avaliados como inibidores da enzima acetilcolinesterase. Recentemente,

Luo e colaboradores reportaram a síntese e avaliação de híbridos ebselen-donepezil como inibidores da AChE, e obtiveram inibidores do tipo **38** e **39** (Figura 13) com IC₅₀ na ordem de 97 nM e 0.46 μM respectivamente (LUO et al., 2013, 2014). Similarmente, em trabalho do mesmo grupo, híbridos ebselen-tacrina-donepezil do tipo **40** também se mostraram bons antioxidantes e inibidores da AChE, o exemplo na figura abaixo apresentou um IC₅₀ de 2.55 nM.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa descreveu a síntese de seleno-DHPM do tipo **41** que apresentou atividade inibidora da AChE, com um IC₅₀ na ordem de 2.16 μM, sendo mais ativo que o fármaco padrão (CANTO et al., 2014).

Figura 13 - Estruturas de compostos organosselênio com atividade inibidora da AChE.

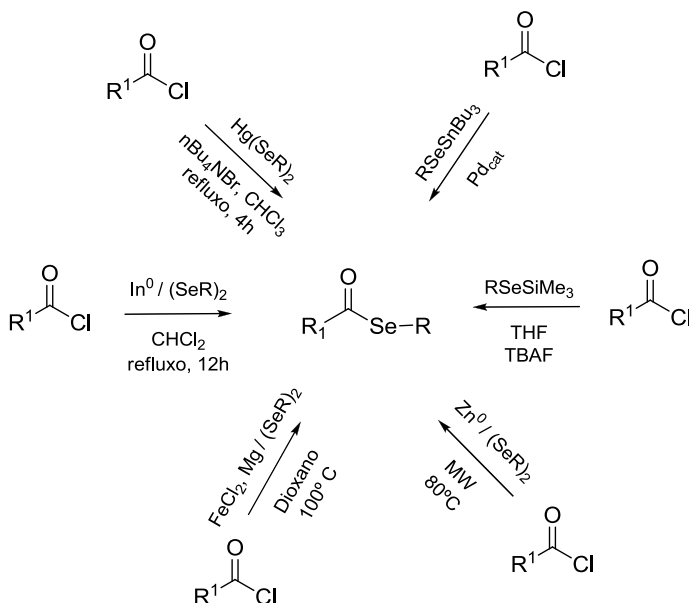


3.9. Síntese de selenoésteres

Selenoésteres tem mostrado elevada importância na química orgânica, química medicinal, e na química de materiais (ABDO; KNAPP, 2008; RAMPON et al., 2010). Vários métodos são descritos na literatura para a obtenção de selenoésteres, dentre estes destacam-se a utilização de cloretos de ácido frente a substituição por espécies nucleofílicas de selênio como $\text{Hg}(\text{SePh})_2$ (SILVEIRA; BRAGA; LARGHI, 1999), PhSeSiMe_3 (CAPPERUCCI; DEGL'INNOCENTI; TIBERI, 2011) e $\text{PhSeSnBu}_3/\text{Pd}$ (NISHIYAMA et al., 2003).

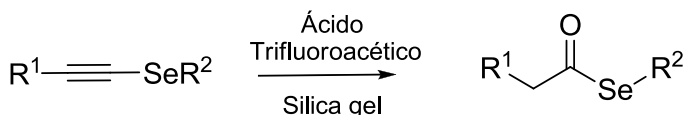
Outros trabalhos promovem a clivagem de disselenetos de diarila ou alquila na presença de FeCl_2 (REN et al., 2010), Zn^0 (GODOI et al., 2012) e In^0 (MARIN et al., 2009) e subsequente reação com cloretos de ácido levando a formação dos selenoésteres. Esses métodos que utilizam cloretos de ácido podem ser observados no Esquema 3.

Esquema 3 - Formação de selenoésteres a partir de cloretos de ácido

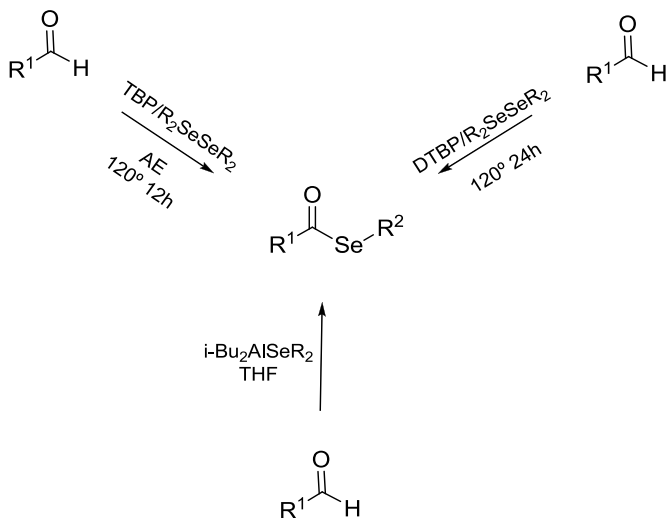


Entretanto, selenoésteres também podem ser obtidos a partir de calcogenoacetilenos como reportado por Braga e colaboradores (BRAGA et al., 2001), que através do tratamento dos calcogenoacetilenos com ácido trifluoroacético e sílica gel obtiveram os selenoésteres com rendimentos satisfatórios (Esquema 4).

Esquema 4 - Síntese de selenoésteres a partir de selenoacetilenos



Selenoésteres também podem ser obtidos a partir de aldeídos. Como descrito por Inoue *et al*, aldeídos na presença de $i\text{-Bu}_2\text{AlSeR}$ levam aos respectivos selenoésteres (INOUE et al., 1994). Aldeídos na presença de peróxido de *t*-butila (TBP) e disselenetos de diarila em acetato de etila como solvente também levam a selenoésteres (HE; QIAN; SUN, 2014) e ainda a reação de aldeídos com peróxido de di-*t*-butila (DTBP) e disselenetos de arila ou alquila em condições sem solvente (LIOU et al., 2014) (Esquema 5).

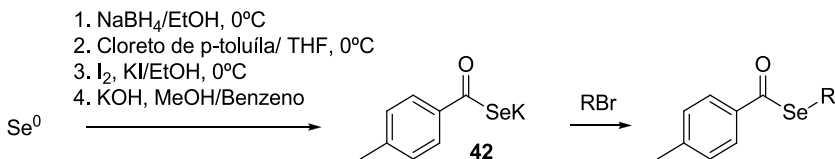
Esquema 5 - Síntese de selenoésteres a partir de aldeídos.

Recentemente, Ghassemian e colaboradores (GHASSEMIAN et al., 2013) relataram a síntese de peptídeo-selenoesteres partindo-se da espécie selenocianato, a qual primeiramente é reduzida e depois selenoesterificada.

A utilização das espécies selenocarboxilato nucleofílicas também é uma forma eficaz de obter selenoésteres, uma vez que estas podem ser geradas e subsequentemente reagidas com eletrófilos.

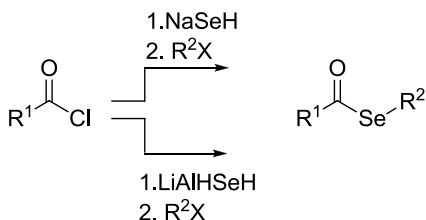
Kawai e colaboradores (KAWAI et al., 2005) reportaram a síntese de selenoésteres utilizando uma rota sintética de cinco etapas, na qual primeiramente é formado um selenocarboxilato de sódio, o qual é transformado em seu respectivo disseleneto na presença de I_2 . Subsequentemente este disseleneto na presença de KOH em benzeno é clivado ao respectivo selenocarboxilato de potássio **42** que é obtido juntamente com selênio elementar em uma proporção de 1:1. O selenocarboxilato é isolado e posteriormente utilizado em reações de substituição levando a diversos selenoésteres como observado no Esquema 6.

Esquema 6 - Obtenção de selenoésteres via rota descrita por Kawai e colaboradores (KAWAI et al., 2005).



Outra forma de utilização da espécie selenocarboxilato é sua utilização em reações do tipo *one-pot* em três etapas, nas quais ocorre a geração *in situ* do selenocarboxilato e subsequente reação com eletrófilos como haletos de alquila levando aos selenoésteres sem a necessidade de isolamento de intermediários. No Esquema 7 são mostrados métodos que levam a selenoésteres utilizando selenocarboxilatos obtidos a partir de cloretos de ácido e espécies nucleofílicas de selênio como NaSeH (ATHAYDE-FILHO et al., 2004) e LiAlHSeH (KOKETSU;ASADA; ISHIHARA, 2004).

Esquema 7 - Metodologias para a preparação de selenoésteres a partir de selenocarboxilatosde maneira *one-pot*.

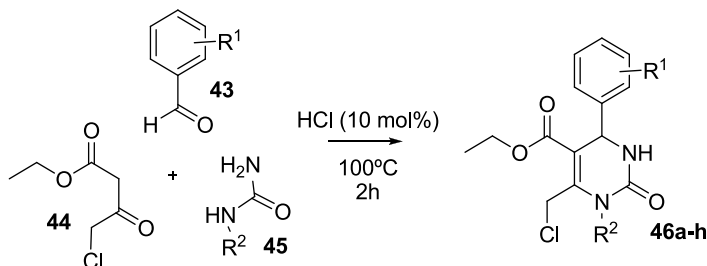


4. Resultados e discussão

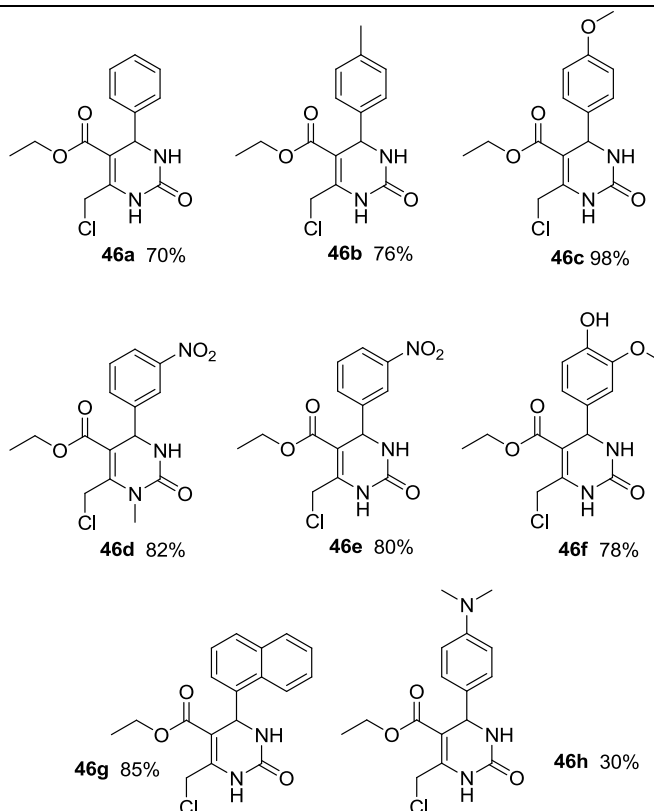
4.1. Síntese das 6-Cloro-Diidropirimidinonas

Na primeira etapa do trabalho realizou-se a síntese dos materiais de partida, as 6-cloro-diidropirimidinonas (6-cloro-DHPM) **46a-h**, as quais foram obtidas através da reação multicomponente de Biginelli, seguindo a metodologia descrita por Canto e colaboradores (CANTO et al., 2014). Para tanto, como observado Esquema 8 reagiu-se um aldeído aromático **43** com diferentes substituintes na porção aromática, 4-cloroacetoacetato de etila **44** e uréia ou N-Me-uréia **45** na proporção de 1:1:2 equivalentes, respectivamente, por duas horas sob catálise ácida e na ausência de solvente.

Esquema 8 - Síntese das 6-cloro-DHPM



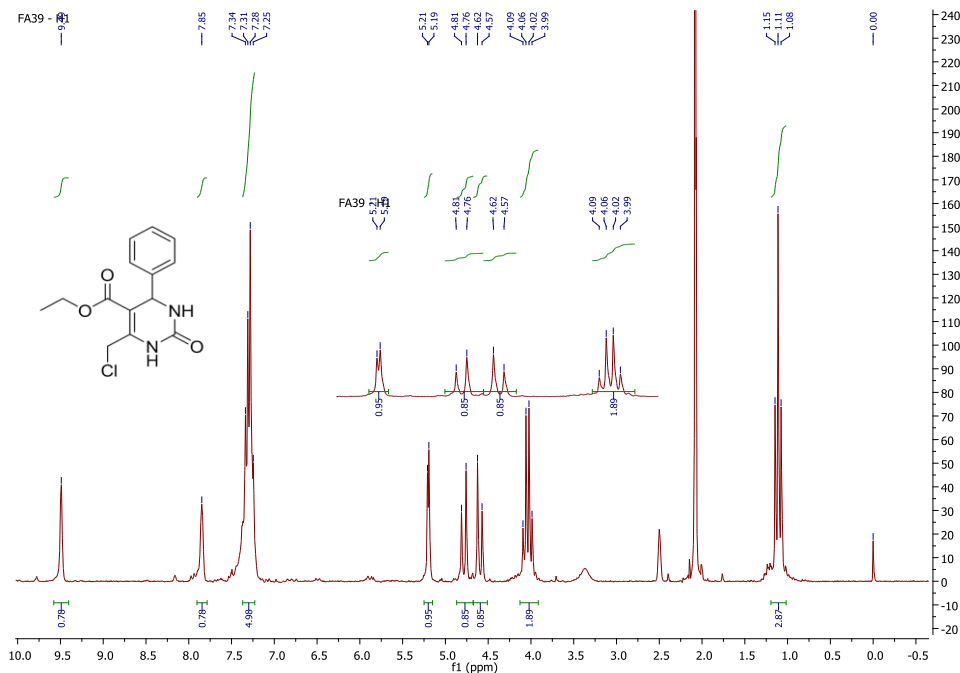
Como mostrado na Tabela 1, a síntese dos materiais de partida foi realizada com sucesso e as 6-cloro-DHPM foram obtidas com bons rendimentos (70 – 98%), salvo o exemplo **46h** que foi obtido com rendimento baixo (30%). Foram sintetizadas um total de 8 6-cloro-DHPM utilizando-se aldeídos aromáticos possuindo grupos retiradores e doadores de densidade eletrônica, nas posições *meta* e *para*, assim como aldeídos bicíclicos, o que não influenciou com grande significância os rendimentos, exceto no exemplo **46h**. Para a síntese do composto **46d** foi utilizada a N-Metiluréia, a fim de avaliar a influência da metila na posição N1, e não foi observada influência significativa no rendimento.

Tabela 1 – Estruturas e rendimentos das 6-cloro-DHPMs

As análises das 6-cloro-DHPM foram feitas com os compostos em seu estado bruto, uma vez que encontravam-se com um estado de pureza aceitável, verificado por CCD e RMN e as reações subsequentes foram realizadas sem purificação adicional. Devido à alta polaridade dos compostos, as análises de RMN tiveram que ser realizadas utilizando DMSO como solvente. Como mencionado anteriormente, os compostos foram analisados por espectroscopia de RMN de H^1 , C^{13} e massas de alta resolução e infravermelho para os compostos inéditos. A título de exemplo, abaixo se encontra o espectro de hidrogênio do composto **46a** (Figura 14), o qual foi obtido na frequência de 200 MHz, em solvente DMSO- d_6 e

apresenta todos os sinais característicos do composto em questão.

Figura 14 - Espectro de RMN de hidrogênio do composto **46a** em DMSO-d₆ a 200 MHz.



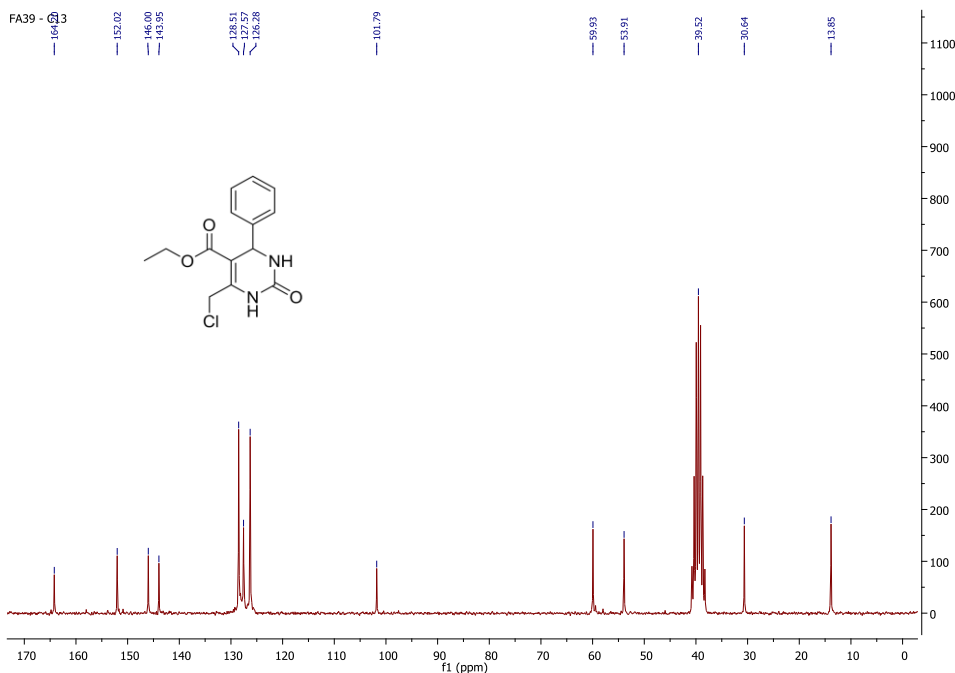
Centrado 1,11 ppm encontra-se um triplete referente a metila do grupamento éster, o qual possui um valor de integração referente aos três hidrogênios. Em seguida é possível observar um quarteto na região de 4,04 ppm (observar expansão no espectro) com integral para 1,92 referente aos dois hidrogênios do CH₂ do éster.

Na região entre 4,57 a 4,81ppm, encontram-se dois dubletos (com $J=10,6\text{Hz}$) referentes aos dois hidrogênios do carbono ligado ao átomo de cloro, ambos tem integral com valor de 1, desta forma, cada um dos dois dubletos corresponde á um hidrogênio do CH₂. O hidrogênio ligado ao carbono do centro quiral está representado por um dubleto em

5,20ppm, integrando para 1. Na região de campo baixo, um multipletto na região entre 7,24 e 7,37ppm referente aos hidrogênios aromáticos, e em 7,85 e 9,49 ppm estão localizados os dois singletos referentes aos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio do heterociclo N3 e N1 respectivamente.

No espectro de C^{13} (Figura 15) obtido na frequência de 50 MHz e utilizando DMSO- d_6 como solvente, observa-se os sinais esperados para este composto.

Figura 15 - Espectro de RMN de carbono do composto **46a** em DMSO- d_6 a 50 MHz.



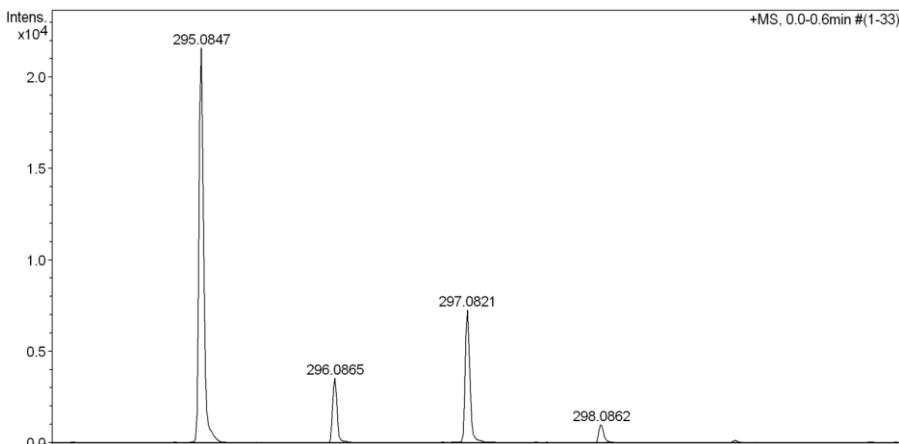
Na região compreendida entre 13,8ppm e 59,9 ppm encontram-se os sinais referentes aos carbonos alquílicos do composto, os sinais mais blindados, 13,8ppm e 30,6ppm podem ser atribuídos á metila do éster etílico, e ao CH₂ ligado ao cloro, respectivamente. Ainda na região alquílica

encontram-se os sinais referentes ao carbono da ligação C-H do centro quiral em 53,9ppm, e em 59,9ppm um sinal referente ao CH₂ do éster. Em 101,8 ppm encontra-se o sinal referente ao carbono da ligação dupla vizinha ao centro quiral. Na região de 126,2ppm a 128,5 ppm estão 5 sinais dos carbonos aromáticos, e o sexto aparece um pouco mais desblindado.

Os três sinais mais desblindados são referentes aos demais carbonos quaternários da estrutura, o carbono da ligação dupla, da uréia e do grupamento éster, estes dois últimos aparecerem mais desblindados que os demais devido ao fato de estarem ligados a heteroátomos.

Os compostos também foram analisados por espectroscopia de massas de alta resolução em modo positivo e com fonte de ionização APPI, com a qual foi possível verificar o pico do íon molecular das 6-cloro-DHPM com a distribuição isotópica característica. É possível observar na Figura 16, o espectro de massas expandido do composto **46a**, no qual é observado o pico referente à sua massa encontrada. A massa calculada para C₁₄H₁₅ClN₂O₃[M+H]⁺ era de 295,0844, e o encontrado foi 295,0847.

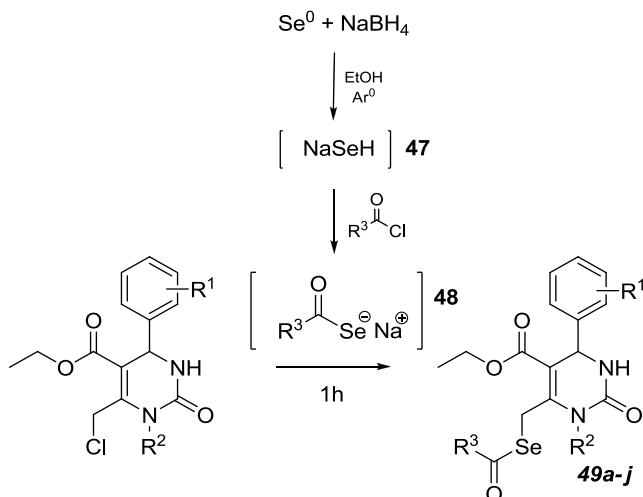
Figura 16 - Espectro de massas de alta resolução do composto **46a** utilizando fonte de ionização APPI.



4.2. Síntese dos selenoésteres

Nesta etapa do trabalho foi realizada a síntese das seleno-DHPM contendo a função selenoéster. Para tanto, foi utilizada uma metodologia descrita por Canto (CANTO, 2014) e Athayde-Filho e colaboradores (ATHAYDE-FILHO et al., 2004). Empregou-se uma rota sintética *one-pot* de três etapas, na qual, primeiramente a espécie nucleofílica de selênio NaSeH **47** é gerada *in situ* através da reação de selênio elementar com borohidreto de sódio em etanol sob atmosfera inerte. Em seguida é adicionado ao intermediário **47** o cloreto de ácido desejado, e desta forma é obtido o selenocarboxilato **48** utilizado como agente selenilante, que por sua vez, quando na presença do eletrófilo, promove a substituição do átomo de cloro levando a formação dos produtos **49a-j** como apresentado no Esquema 9.

Esquema 9 - Rota sintética para a obtenção dos selenoésteres.

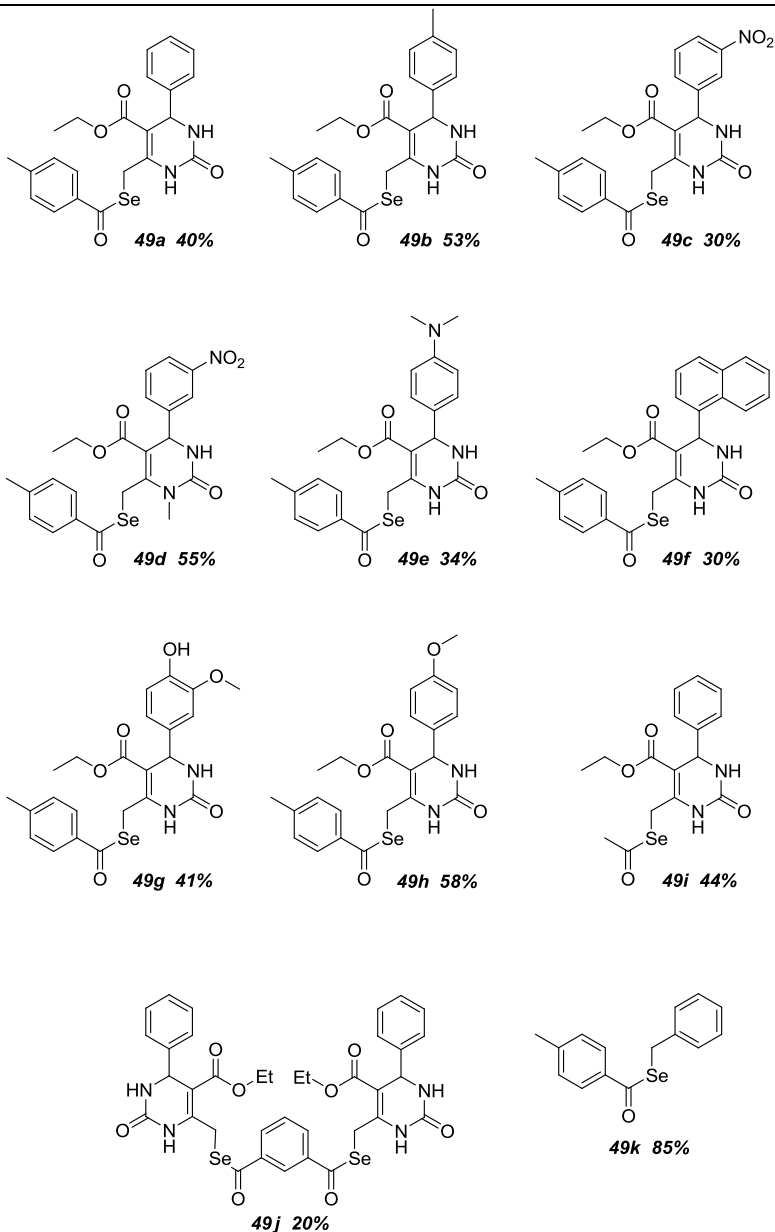


Como pode ser observado na Tabela 2, foi sintetizada uma série de dez selenoésteres **49a-j**, com substituintes doadores e retiradores de densidade eletrônica no anel aromático da porção advinda da DHPM nas posições *orto*,

meta e *para*, e também um exemplo foi feito com o substituinte metila na posição N1. Os produtos foram obtidos com rendimentos que variaram de baixos a moderados (20 – 58%) e pode ser observado que a natureza do substituinte não foi um fator que influenciou fortemente nos rendimentos das reações. Para efeito comparativo na síntese e principalmente para os ensaios biológicos, foi realizada a síntese dos selenoésteres **49i-j**, os quais foram obtidos pela utilização de um selenocarboxilato alquílico, partindo da utilização do cloreto de acetila, originando o composto **49i**, e quando utilizado o cloreto de isoftaloíla, foi possível obter um di-selenocarboxilato, o qual proporcionou a síntese do dímero **49j**. Na utilização do selenocarboxilato alquílico, o produto foi obtido com rendimento moderado de 44%, enquanto que o dímero foi obtido com rendimento um pouco mais baixo, 20%.

O selenoéster benzílico **49k** foi sintetizado com o intuito de verificar a importância da junção do grupamento selenoéster ao núcleo DHPM. Sendo assim, no composto **49k** foi mantido o grupo selenoacil-p-toluil e no lugar da DHPM foi inserido simplesmente um grupo benzila.

Todos os produtos obtidos puderam ser facilmente purificados por cromatografia líquida em coluna. Por tratarem-se de moléculas inéditas na literatura (**49a-j**), os compostos foram devidamente caracterizados pelos métodos espectroscópicos necessários, como RMN de hidrogênio e carbono, massas de alta resolução, infravermelho, e ponto de fusão.

Tabela 2 - Estruturas e rendimentos dos selenoésteres sintetizados

A título de exemplo, as análises espectroscópicas do selenoéster **49a** são mostradas e discutidas a seguir.

O espectro de hidrogênio do composto **49a** (Figura 17) apresenta todos os sinais característicos e esperados para a molécula. Em 1,15 ppm é observado o tripleto referente à metila do ester etílico com integral para 3 hidrogênios, e em seguida em 2,39 ppm, o sinal da metila que vem do acréscimo da porção do selenocarboxilato com integral para 3 hidrogênios. Em 4,07 ppm encontra-se o quarteto referente ao CH₂ também do éster etílico. Em 4,28 ppm e em 4,35 ppm encontram-se os dois dubletos referentes ao CH₂ ligado ao selênio com integral para 1 hidrogênio cada, com constantes de acoplamento de 12,7 Hz e 11,7 Hz respectivamente.

Em 5,35 ppm encontra-se o dubleto referente ao CH do centro quiral da molécula, este dubleto apresenta integral igual a 1. Em campo mais baixo é possível observar os sinais referentes aos dois NHs do heterociclo em 6,62 ppm e 7,65 ppm e ainda, claramente é possível observar os sinais aromáticos da molécula, de 7,22 a 7,27 ppm um multipletto com integral com valor de 7, referente a sete dos nove hidrogênios aromáticos, e por último, em 7,79 ppm o dubleto remanescente com integral igual a 2 referente aos outros dois hidrogênios equivalentes da porção aromática advinda do selenocarboxilato.

O espectro de carbono também apresenta os sinais característicos esperados para a molécula, como pode ser observado na Figura 18.

O espectro de carbono quando comparado ao material de partida é possível observar o aparecimento de seis novos sinais referentes à porção contendo selênio adicionada na molécula. Em campo alto, de 13,9 a 60,2 ppm estão os sinais que podem ser atribuídos aos carbonos alquílicos da molécula. O sinal em 21,7 ppm pode ser atribuído à nova metila adicionada na molécula advinda da subunidade selenilante. O carbono do CH₂ alílico, agora ligado ao selênio sofreu uma variação no seu deslocamento químico, pois antes, quando ligado ao cloro no material de partida apresentava um deslocamento de 30,6 ppm e agora, ligado ao selênio aparece em 22,9 ppm, fato que pode ser atribuído ao

tamanho, polarizabilidade e a menor eletronegatividade do átomo de selênio, que desta forma doa uma maior densidade eletrônica ao carbono, e assim torna-o mais blindando, e seu deslocamento químico sofre uma diminuição.

Também é possível observar o sinal do carbono quaternário adjacente à carbonila do éster e ao centro quiral em 101,1 ppm, seguido dos sinais dos carbonos equivalentes das duas porções aromáticas agora presentes na molécula aparecendo como 4 sinais, de 126,5 à 129,5 ppm intercalados com um sinal de um dos carbonos quaternários em 127,7 ppm. Em campo mais baixo, são observados os sinais dos demais carbonos quaternários, e das carbonilas. Os três últimos sinais, de 152,5 ppm a 195,8 ppm podem ser atribuídos às três carbonilas da molécula.

Figura 17 - Espectro de hidrogênio do composto **49a** obtido em CDCl₃ a 200MHz.

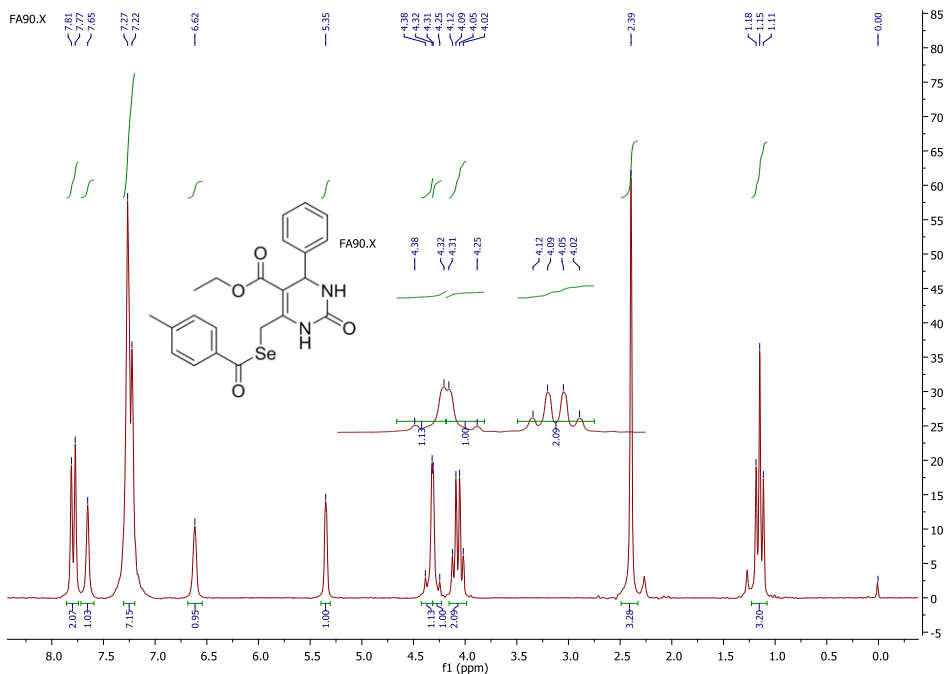
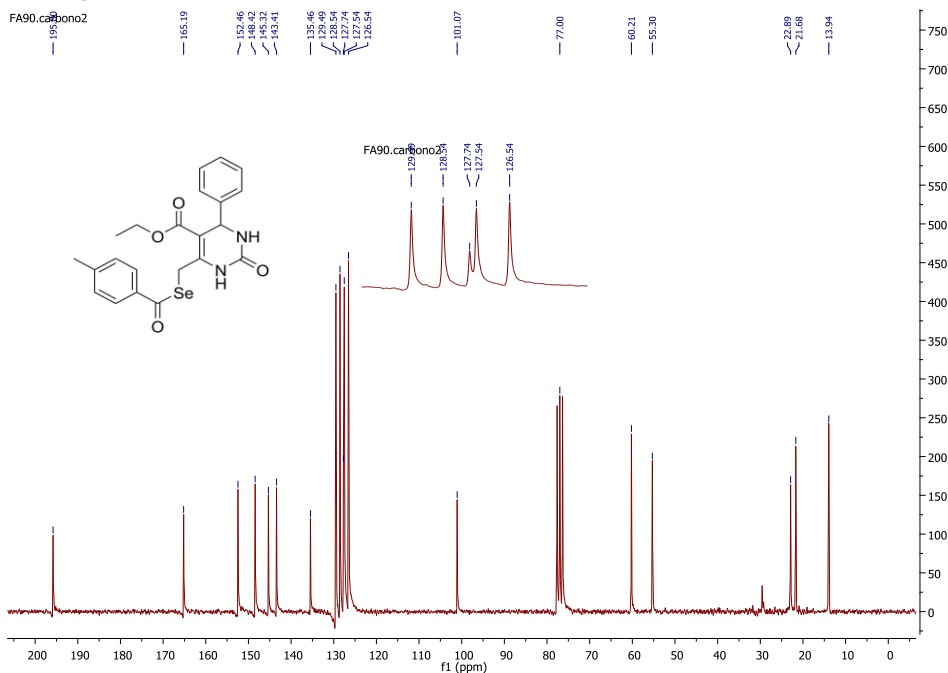
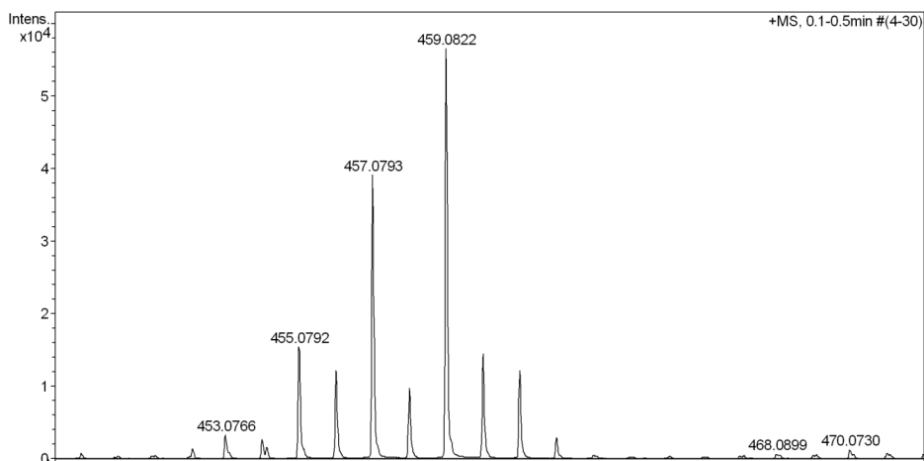
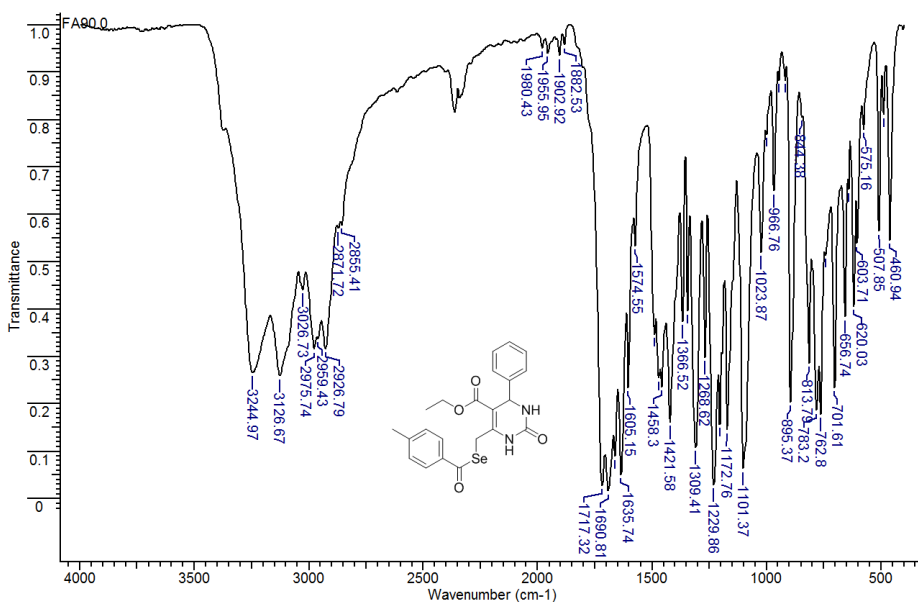


Figura 2- Espectro de carbono do composto **49a** em CDCl₃ a 50MHz.**Figura 19 -** Espectro de massas de alta resolução do composto **49a** utilizando fonte de ionização APPI.

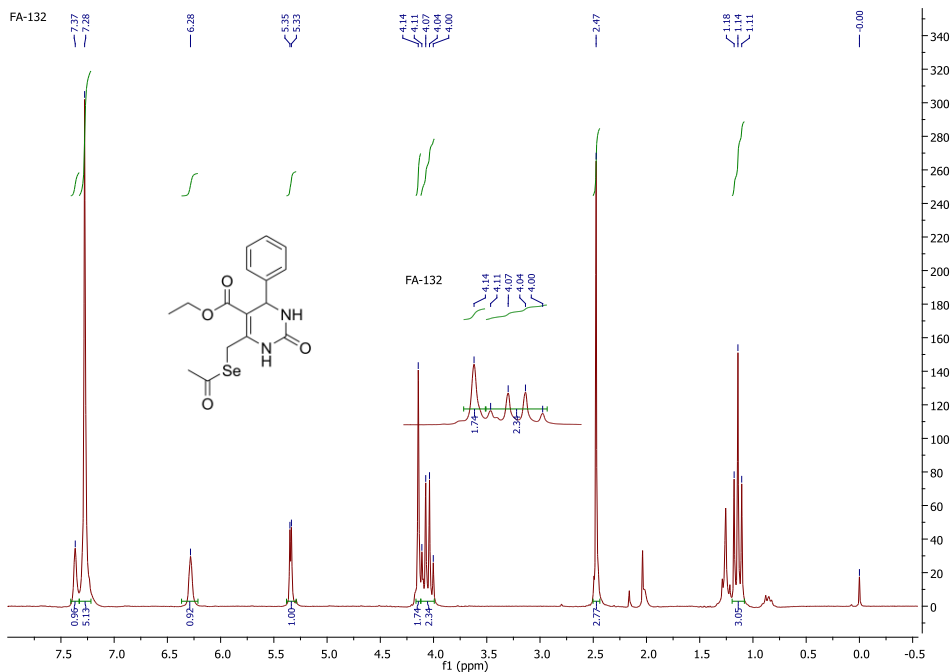
O espectro de massas da molécula também foi realizado e como observado na Figura 19, observa-se o pico do íon molecular referente à massa encontrada do composto com a distribuição isotópica esperada, a qual foi de 459.0822 $[M+H]^+$ enquanto que a massa calculada para $C_{22}H_{22}N_2O_4Se$ era de $[M+H]$ 459.0819.

No espectro de infravermelho mostrado abaixo na Figura 20 é possível observar algumas bandas características da molécula em questão, como as carbonilas do heterociclo, do éster e do selenoéster que estão na região que vai de 1605 a 1717 cm^{-1} . E as duas bandas, em 3126 e em 3245 cm^{-1} podem ser atribuídas aos dois NHs presentes na estrutura

Figura 20 - Espectro de IV do composto **49a** em pastilha de KBr.



A caracterização do selenoéster alquílico **49i** foi realizada pelos métodos necessários e seu espectro de hidrogênio pode ser observado abaixo.

Figura 21 - Espectro de hidrogênio do composto **49i** em CDCl₃ a 200MHz.

Como observado na figura acima, o espectro de hidrogênio do composto **49i** apresenta todos os sinais característicos da molécula. Diferentemente do selenoéster **49a**, não existem os sinais aromáticos adicionais, e somente há o aparecimento de um singlete em 2,47 ppm com integral igual a 3 referente à metila ligada à carbonila do selenoéster.

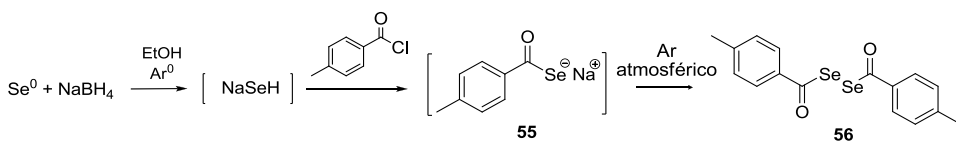
O sinal do CH₂ ligado ao selênio normalmente é representado por dois dubletos, como no material de partida **46a** e no selenoéster **49a**, entretanto, no selenoéster alquílico **49i** ele está representado por um singlete em 4,14 ppm com integral igual a 2 referente aos dois hidrogênios.

4.3. Tentativa de isolamento do selenocarboxilato

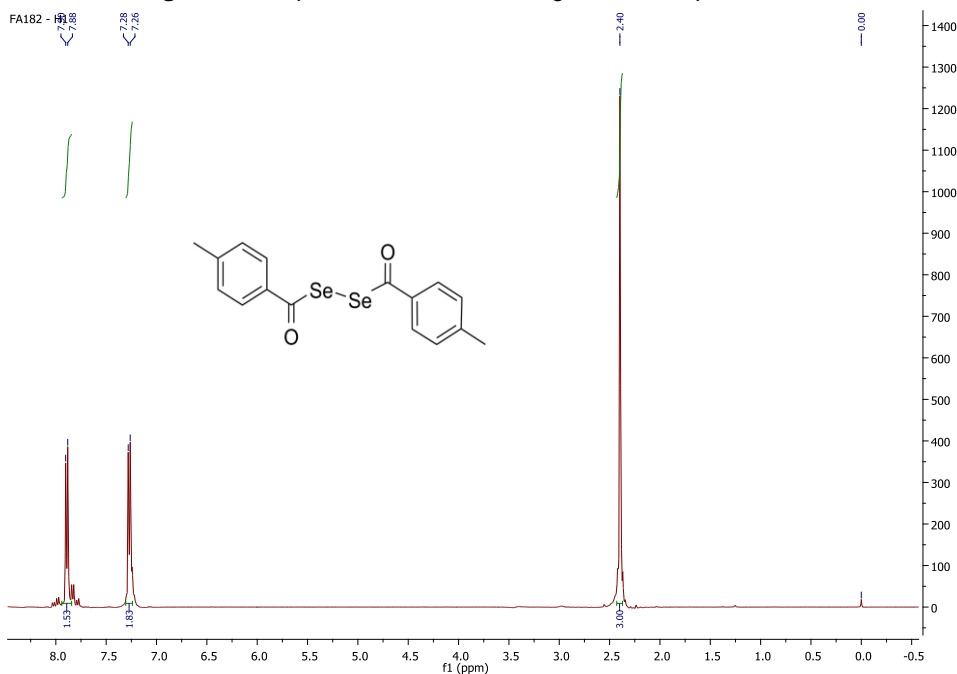
Com o intuito de isolar o intermediário selenocarboxilato **55**, foi conduzida uma reação na qual a espécie **55** foi gerada *in situ* utilizando cloreto de p-toluíla e a espécie NaSeH seguindo o protocolo usual como mostrado no Esquema 10.

Entretanto, devido à instabilidade do selenocarboxilato de sódio frente ao ar atmosférico durante o processo de extração, não foi possível isolar o mesmo. Porém, o respectivo disseleneto **56** foi isolado com 51% de rendimento.

Esquema 10 - Tentativa de isolamento do composto **55**



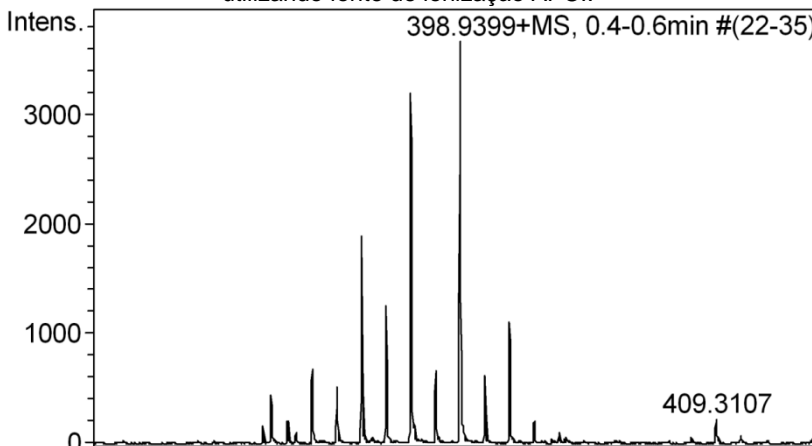
Os espectros de RMN de hidrogênio e carbono do composto **56** apresentam os sinais característicos esperados para a molécula. Abaixo segue o espectro de RMN de hidrogênio da molécula em questão.

Figura 22 - Espectro de RMN de hidrogênio do composto **56**

Em 2,40ppm é possível observar um singleto com integral igual a 3 referente à metila em posição *para* no disseleneto, e em seguida, na região dos hidrogênios aromáticos é possível observar dois dubletos mostrando o padrão de substituição *para* do anel aromático, cada um integrando para 2, e ambos com constantes de acoplamento de $J = 8,21$ Hz.

Para confirmar a estrutura do composto, o espectro de massas de alta resolução foi obtido, e na Figura 23 observa-se o pico do íon molecular referente à massa encontrada do composto que foi de 398,9399 $[M+H]^+$.

Figura 23 - Espectro de massas de alta resolução do composto **49a** utilizando fonte de ionização APCI.



4.4. Síntese do tioéster

A síntese do tioéster análogo aos selenoésteres também foi realizada neste trabalho. A síntese desta molécula, que pode ser considerada um bioisótero dos demais selenoésteres é relevante, pois além de também ser inédita, é um exemplo interessante para um efeito comparativo com os selenoésteres nos testes biológicos.

Assim como no caso dos selenoésteres, vários métodos são descritos na literatura para a síntese de tioésteres, partindo de aldeídos e espécies metálicas de enxofre como $i\text{-Bu}_2\text{AISr}$ e $\text{Hg}(\text{RS})_2$ (INOUE et al., 1994; SILVEIRA; BRAGA; LARGHI, 1999), ou aldeídos e dissulfetos na presença de peróxido de t-butila (TBP) como recentemente reportado por He e colaboradores (HE; QIAN; SUN, 2014).

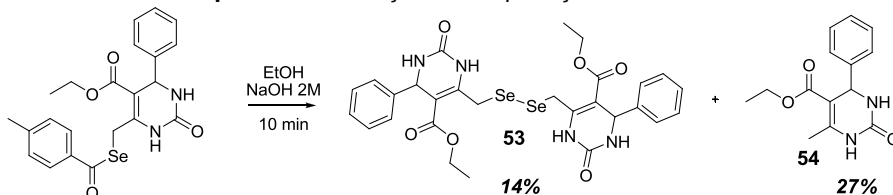
O uso da clivagem de dissulfetos (AZEREDO et al., 2013; CHOWDHURY; ROY, 1997) e a desprotonação de tióis (MESHRAM et al., 1998) levando a formação de ânions tiolato e posterior acoplamento com cloretos de ácido também é recorrente na literatura.

4.5. Síntese do disseleneto

Vários métodos são reportados na literatura para a desproteção de selenoésteres. Alguns métodos utilizam meio ácido como HCl para a desproteção, levando ao disseleneto desejado (YOSHIMOTO et al., 2012), em outros trabalhos é utilizado meio alcalino, como Cs_2CO_3 /Piperazina (KAWAI et al., 2005), Piperazina (SCHWAB; SCHNEIDER, 2012), K_2CO_3 (TOWNSEND et al., 2012), e NaOMe (FOURNIÈRE; CUMPSTEY, 2010).

Com o intuito de averiguar a desproteção dos selenoésteres aos disselenetos correspondentes foi conduzida uma reação na qual o selenoéster **46a** foi tratado com uma solução aquosa de NaOH 2M usando etanol como solvente (Esquema 12). Nessas condições o disseleneto **53** foi obtido com 14% de rendimento. Entretanto, a formação do produto desejado foi acompanhada da formação de um subproduto, o qual foi identificado como sendo a DHPM reduzida **54**, formada com 27% de rendimento. Canto (CANTO, 2014) descreveu recentemente reação semelhante, na qual quando reagiu as 6-cloro-DHPM com selenolatos provenientes da clivagem de disselenetos, ocorreu a formação do seleneto desejado, produto da reação de substituição do átomo de cloro, acompanhado da DHPM reduzida, produto da dehalogenação redutiva da ligação C-Cl.

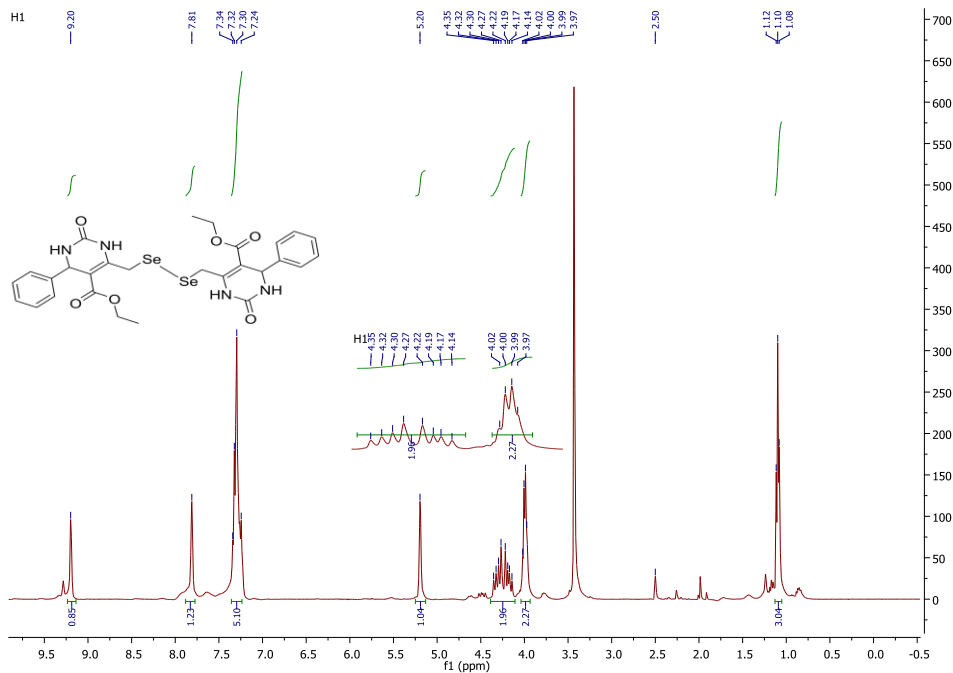
Esquema 12 – Reação de desproteção do selenoester



Os produtos obtidos na desproteção foram devidamente caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , IV, e

massas de alta resolução quando necessário, e os dados seguem abaixo.

Figura 24 - RMN de Hidrogênio em DMSO-d₆ a 400 MHz do composto **53**

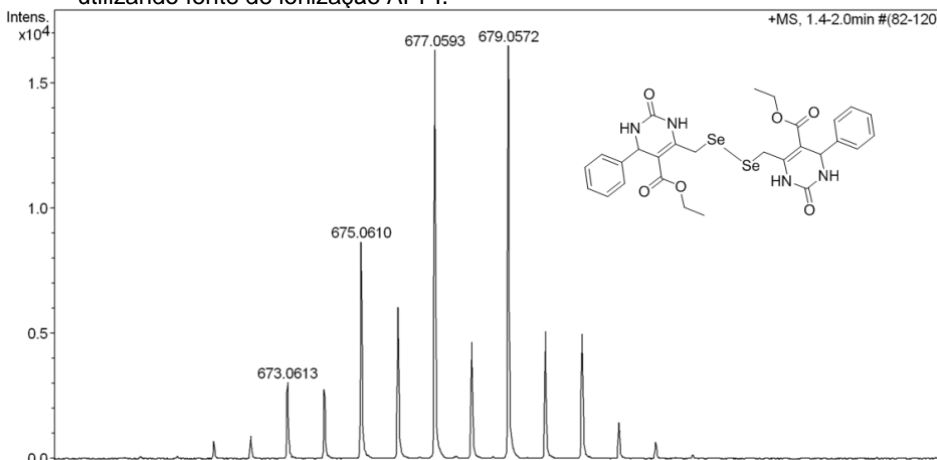


Os espectros de RMN de hidrogênio e carbono foram obtidos em DMSO-d₆ a 400 MHz e apresentam os sinais característicos da molécula em questão.

No espectro de H¹ do disseleneto **53** (Figura 24), centrado em 1,10 ppm é possível observar o triplete característico atribuído ao CH₃ do éster etílico com integral para 3. Entre 3,99 e 4,02 ppm encontra-se um multipletto com integral referente a 2 hidrogênios, atribuído ao CH₂ do éster. De 4,14 a 4,35 ppm encontra-se um multipletto com integral com valor de 2, referente ao CH₂ ligado ao átomo de selênio. Em 5,20 ppm encontra-se um singlete referente ao hidrogênio do centro quiral, e em campo mais baixo, os sinais aromáticos e os dois N-Hs do heterociclo.

O espectro de massas de alta resolução do disseleneto **53** também foi realizado e como observado na Figura 25, observa-se o pico do íon molecular referente à massa encontrada do composto ($679,0572 [M+H]^+$) com a distribuição isotópica esperada.

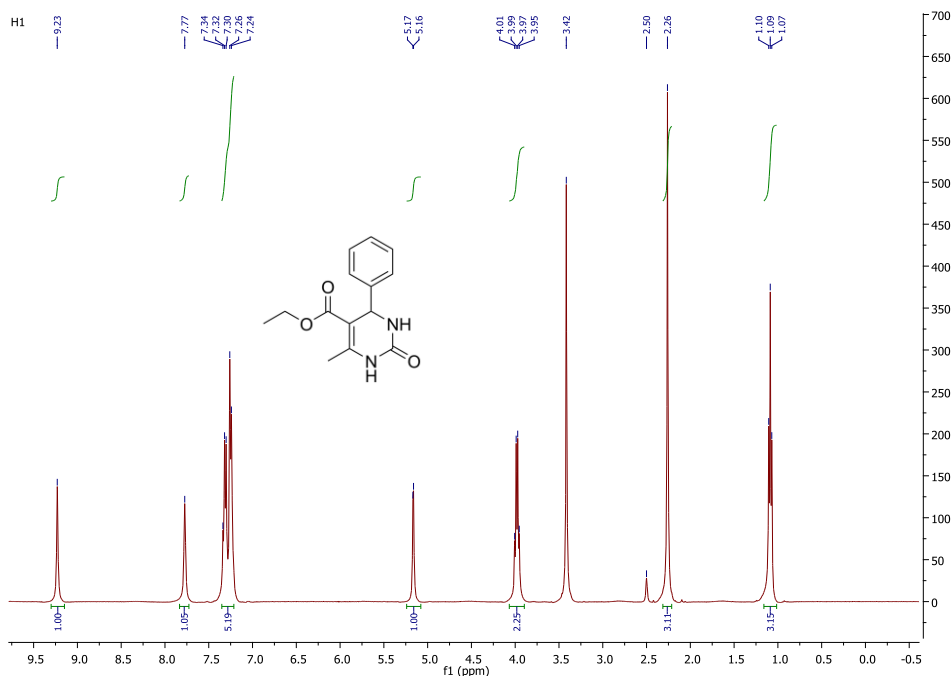
Figura 25 - Espectro de massas de alta resolução do composto **53** utilizando fonte de ionização APPI.



No espectro de hidrogênio da DHPM reduzida **54**, observado na Figura 26, é possível observar claramente a ausência do sinal referente ao CH₂ ligado ao selênio na região próxima a 4,5 ppm, e o aparecimento de um singlete com integral para 3, podendo ser atribuído à metila remanescente na posição 6 do heterociclo.

Os demais espectros de carbono, massas de alta resolução e infravermelho podem ser encontrados na seção de espectros, e apresentam o padrão esperado para as moléculas.

Figura 26 - Espectro de hidrogênio do composto **54** em DMSO-d6 a 400 MHz.



4.6. Avaliação da inibição da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica está claramente envolvida com o estresse oxidativo, pois uma vez que ocorra a formação de espécies radiculares como óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), radical superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$) ou radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$) no meio celular os mesmos podem atacar as biomembranas levando à sua peroxidação e formação de vários produtos oxidados, dentre eles, aldeídos altamente reativos como glioxal, acroleína, 4-hidróxinonenal, e principalmente malondialdeído (MDA), os quais são tóxicos e podem vir a causar várias patologias (NAM, 2011).

No ensaio TBARS, a peroxidação lipídica é induzida por Fe^{2+} , e leva a formação destes aldeídos, que são tratados como sendo as Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico,

sendo assim, substâncias que quando na presença do ácido tiobarbitúrico reagem com o mesmo e formam produtos que apresentam coloração avermelhada, sendo a intensidade da coloração diretamente proporcional a intensidade da peroxidação lipídica. Estes produtos podem ter sua formação detectada espectrofotometricamente com a leitura sendo feita em 532nm (GROTTO et al., 2009).

Os dez selenoésteres (**49a-j**) sintetizados no presente trabalho tiveram sua atividade antioxidante avaliada pelo ensaio TBARS, juntamente com o tioéster **52** e os fragmentos **49k** e **54** (Esquema 12), os quais foram testados com o intuito de verificar a importância da junção do grupamento selenoéster ao núcleo DHPM. Como padrões positivos de inibição da peroxidação lipídica foram utilizados o ebselen e disseleneto de difenila (DPDS). Os resultados podem ser observados no Gráfico 1.

Esquema 12- Fragmentação do composto **49a** nos compostos **49k** e **54**.

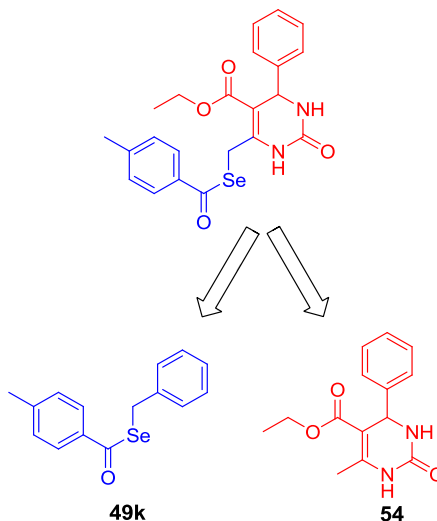
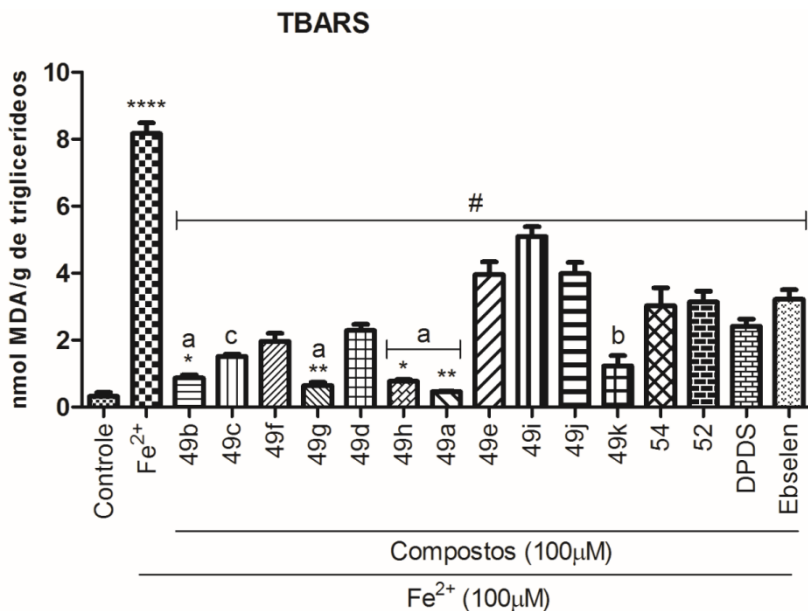


Gráfico 1- Efeito dos compostos (100 μ M) na inibição da peroxidação lipídica induzida por Fe²⁺(100 μ M) em triglicerídeos extraídos de gema de ovo. Os dados estão expressos como Média \pm Erro padrão da média de 3 experimentos independentes realizados em duplicata. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Bonferroni. **** $p < 0.0001$ vs controle, # $p < 0.0001$ vs ferro, ^a $p < 0.0001$ vs ebselen, ^b $p < 0.001$ vs ebselen, ^c $p < 0.01$ vs ebselen, ^{**} $p < 0.01$ vs DPDS, ^{*} $p < 0.05$ vs DPDS (Disseleneto de difenila).



De forma geral, todos os compostos avaliados foram capazes de inibir a peroxidação lipídica de forma eficaz ([#] $p < 0.0001$) quando comparados com a situação contendo ferro.

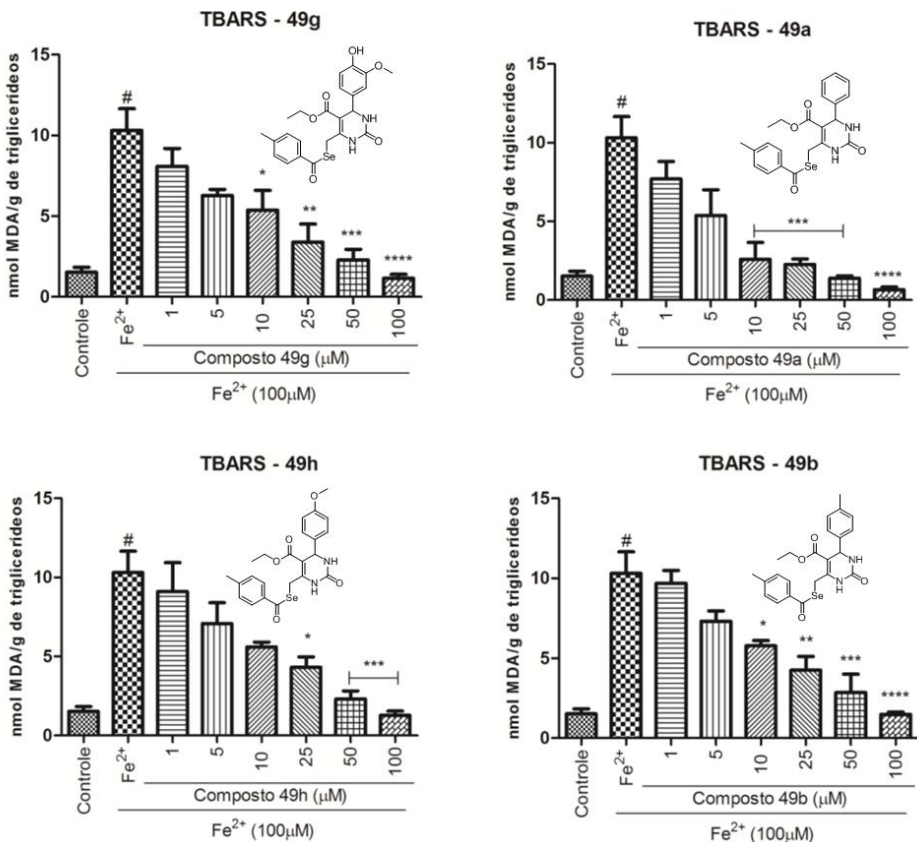
Todos os selenoésteres contendo a porção aromática p-toluil **49a-h** foram capazes de inibir a peroxidação lipídica, dentre estes, os compostos que mais inibiram a peroxidação lipídica foram os compostos **49b**, **49g**, **49h** e **49a**, os quais foram significativamente mais ativos que os padrões ebselen e disseleneto de difenila (DPDS). Este resultado sugere que substituintes doadores de elétrons no sistema aromático ou ainda o anel não-substituído da DHPM levam a um aumento na atividade.

O composto **49c** também se mostrou eficiente em inibir a peroxidação lipídica, sendo mais ativo que o padrão ebselen, mas quando há a inserção da metila no N1 no seu análogo **49d** a atividade é diminuída. Os compostos **49f** e **49e** também apresentaram atividade um pouco menos pronunciada que os demais. O composto **49e** foi o menos efetivo da série homóloga, quando comparado com **49a** é observado claramente que há uma grande diminuição na atividade, causada pela inserção do grupo p-dimetilamino no anel aromático.

Comparando-se o composto mais ativo **49a** com os seus análogos **49i** e **49j**, é possível observar que tanto a troca por um grupo selenoéster alquílico (**49i**) ou sua dimerização (**49j**) levam a decréscimos na atividade antioxidante. O mesmo ocorre com o composto **52**, no qual o selênio é trocado pelo enxofre, indicando o papel fundamental do átomo de selênio na estrutura. Mesmo com uma atividade menos pronunciada, o composto **52** ainda é tão eficiente quanto o ebselen.

Os fragmentos **49k** e **54** também apresentaram atividade antioxidante, foi observado que o composto **49k** apresentou atividade superior ao ebselen, enquanto que o composto **54** foi comparável ao ebselen. Entretanto, a atividade de ambos os fragmentos separados são inferiores à atividade da estrutura hibridizada **49a**, indicando um possível efeito sinérgico entre os grupamentos funcionais presentes no híbrido **49a**.

Gráfico 2 - Efeito dos compostos em diferentes concentrações (μM) na inibição da peroxidação lipídica induzida por Fe^{2+} ($100\mu\text{M}$) em fosfolipídeos extraídos de gema de ovo. Os resultados estão expressos como nmol de malondialdeído por grama de triglicerídeos. Os dados estão expressos como Média \pm Erro padrão da média de 3 experimentos independentes realizados em duplicata. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Bonferroni. [#] $p < 0.001$ vs controle, ^c $p < 0.0001$ vs Fe^{2+} , ^d $p < 0.001$ vs Fe^{2+} , ^e $p < 0.01$ vs Fe^{2+} , ^f $p < 0.05$ vs Fe^{2+} .



Uma vez reconhecidos os compostos mais ativos da série (**49b**, **49g**, **49h** e **49a**), os mesmos foram escolhidos para um screening de concentração, e o teste foi realizado com os compostos nas concentrações de 100, 50, 25, 10, 5 e 1 μM . Foi observado que os compostos apresentam atividade mesmo em baixas concentrações, e que a atividade é dose-dependente, sendo que quanto maior a concentração, maior é a capacidade em inibir a peroxidação lipídica.

Os quatro compostos tem sua atividade máxima na concentração de 100 μM . Os compostos **49b**, **49g**, e **49a** apresentam atividade até a concentração de 10 μM , enquanto que o composto **49h** apresenta atividade até a concentração de 25 μM .

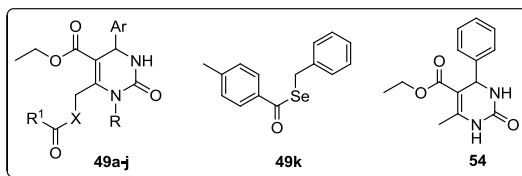
Neste screening de concentração o composto **49a** pode ser considerado o composto que melhor inibe a peroxidação lipídica, uma vez que em concentrações mais baixas como 25 e 10 μM o mesmo apresenta uma diferença significativa superior aos demais compostos. Entretanto, nas concentrações mais altas, 50 e 100 μM , os quatro compostos avaliados são equivalentes.

4.7. Avaliação da atividade quelante de ferro


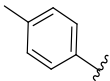
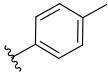
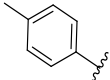

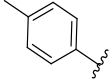
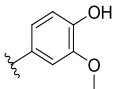
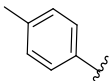

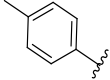
Ions Fe^{2+} são potentes indutores da formação de radicais livres, e desta forma induzem também a peroxidação lipídica (BRAUGHLER; DUNCAN; CHASE, 1986). Desta forma, fármacos antioxidantes podem impedir que metais como ferro e cobre exerçam seu papel oxidante através da complexação com os mesmos. O que é proposto nesta parte do trabalho é que os selenoésteres sintetizados atuem como quelantes de espécies de ferro geradas *in vitro* por sulfato ferroso. O princípio do ensaio é que quanto mais os compostos em questão conseguirem quelar espécies de ferro, menos ferro sobrar para formar o complexo com a 1,10-fenantrolina que é adicionada ao fim do teste. Desta forma o que é monitorado espectrometricamente em 510nm é a formação do complexo colorido entre Fe^{2+} e a 1,10-fenantrolina.

Na Tabela 3 encontram-se os valores de EC_{50} em $\mu\text{mol L}^{-1} \pm \text{SEM}$ para os treze compostos avaliados.

Tabela 3 - Atividade quelante de Fe^{2+} dos compostos. Os compostos foram testados em uma faixa de concentração de 5-100 μM . Os resultados estão expressos como Média \pm erro padrão da média de 3 experimentos independentes realizados em duplicata. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Bonferroni. O * representa diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao padrão BHT.



<i>Compostos</i>	<i>Ar</i>	<i>R</i>	<i>R1</i>	<i>X</i>	<i>Atividade quelante de Fe^{2+} EC₅₀ $\mu\text{mol L}^{-1}$ \pm SEM</i>
49i		H	CH3	Se	41.16\pm2.60
49f		H		Se	35.50\pm1.46
49d		Me		Se	32.83.\pm6.75
49j		H		Se	29.85\pm5.09
49e		H		Se	29.6\pm1.74
49c		H		Se	24.50\pm0.18

49h		H		Se	22.45±1.65
49b		H		Se	21.15±1.37
49a		H		Se	10.45±1.55
49g		H		Se	8.10±0.34 *
52		H		S	20.2±3.81
49k	-	-	-	-	22.35±0.81
54	-	-	-	-	15.85±2.05
BHT					23.30±0.36

Foi observado que sete dos treze compostos apresentaram valores de EC_{50} menores que o do padrão BHT ($23.30 \pm 0.36 \mu\text{mol L}^{-1}$) apresentando assim, atividade quelante. Dentre os compostos avaliados, os considerados mais potentes foram os compostos **49a** e **49g**, contudo, o **49g** ($EC_{50} = 8.10 \pm 0.34 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi o único que apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em comparação ao padrão BHT. O composto **49a** também foi um dos mais ativos como quelante de ferro. Resultado semelhante foi obtido no trabalho sobre selenocianatos derivados de DHPM (CANTO et al., 2014), no qual Canto e colaboradores descreveram que o selenocianato **31** (Figura 11) sem substituintes na porção aromática foi o segundo mais ativo da série avaliada.

Os resultados do ensaio TBARS e da quelação de ferro podem ser correlacionáveis, uma vez que os compostos **49a, b** e **g** sendo bons quelantes de ferro, também irão quelar os

íons ferro no ensaio TBARS, prevenindo que os mesmos venham a produzir ROS e peroxidar os lipídeos.

Assim como na inibição da peroxidação lipídica, os selenoésteres **49i** (alquílico) e **49j** (dímero) foram menos ativos quando comparados com o composto **49a**. O mesmo tipo de relação foi observada quando **49a** é comparado com o tioéster **52**, é possível notar que a presença do selênio aumenta a atividade quelante.

Quando se comparam os fragmentos **54** e **49k** observa-se que ambos foram menos ativos que o **49a**, mostrando maior atividade quando estão hibridizados em uma única estrutura.

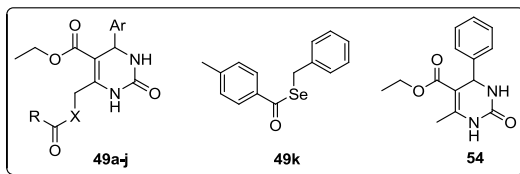
De forma geral, assim como no ensaio TBARS, dentre os sete compostos que exibiram atividade estão somente os compostos que são substituídos no anel aromático da posição 4 com grupos doadores de densidade eletrônica como grupos metila, metoxila e hidroxila ou ainda simplesmente com o anel aromático sem substituintes.

4.8. Avaliação da atividade anticolinesterásica

O ensaio de inibição da enzima AChE foi realizado para alguns dos compostos sintetizados seguindo o método descrito por Ellman *et al* (ELLMAN et al., 1961).

Nos resultados mostrados previamente dos ensaios antioxidantes TBARS e quelação de ferro, foi observado que os selenoésteres **49a** e **49g** foram as moléculas mais ativas. Desta forma, para o teste de inibição da AChE foram selecionados os selenoésteres **49a** e **49g** juntamente com as variações do selenoéster mais ativo **49a**, que são o selenoéster alquílico **49i**, dímero **49j**, e o tio éster **52** e ainda os fragmentos selenoéster benzílico **49k** e DHPM sem selênio **54**.

Tabela 4 - Inibição da AChE em valores de IC_{50} . Os compostos foram testados nas concentrações de 5-50 μ M. Os resultados estão expressos como Média \pm erro padrão da média de 3 experimentos independentes realizados em duplicata. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey. O * representa diferença significativa em relação à Galantamina ($p<0,05$).



<i>Compostos</i>	<i>Ar</i>	<i>R</i>	<i>X</i>	<i>Inibição da AChE</i> <i>IC₅₀ (μM) \pm SEM</i>
49i		CH ₃	Se	14,2 \pm 0,32
49g			Se	13,57 \pm 0,48
49j			Se	10,62 \pm 1,61
49a			Se	7,21 \pm 0,48 *
52			S	11,70 \pm 1,97
49k	-	-	-	9,23 \pm 0,55
54	-	-	-	12,87 \pm 0,32
Galantamina				12,73 \pm 0,87

Como observado na Tabela 4 todos os compostos apresentaram atividade inibitória frente a AChE com valor de IC₅₀ na ordem micromolar. A maioria dos compostos apresentou valores de IC₅₀ comparáveis ao padrão Galantamina, contudo, o composto **49a** foi o que apresentou um valor de IC₅₀ de 7,21±0,48µM, sendo assim, o mais ativo da série e o único a apresentar diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) em relação à Galantamina. Este resultado também é comparável ao descrito por Canto e colaboradores (CANTO et al., 2014), no qual é mostrado que a seleno-DHPM mais eficiente em inibir a AChE foi o composto **31** (Figura 11) sem substituintes na porção aromática, apresentando um IC₅₀ de 2,16 µM.

É possível observar ainda, que quando o grupamento p-toluil do selenoéster **49a** é trocado por uma metila (**49i**), ou no caso do dímero (**49j**), ocorre, como também observado nos testes anteriores, um decréscimo na atividade, sendo que o selenoéster alquílico é o menos ativo, mas ainda apresenta atividade inibitória.

Quando o composto **49a** é comparado com o seu análogo tio éster **52**, também é observado um decréscimo na atividade inibitória, demonstrando que a presença do selênio é essencial para uma maior inibição enzimática.

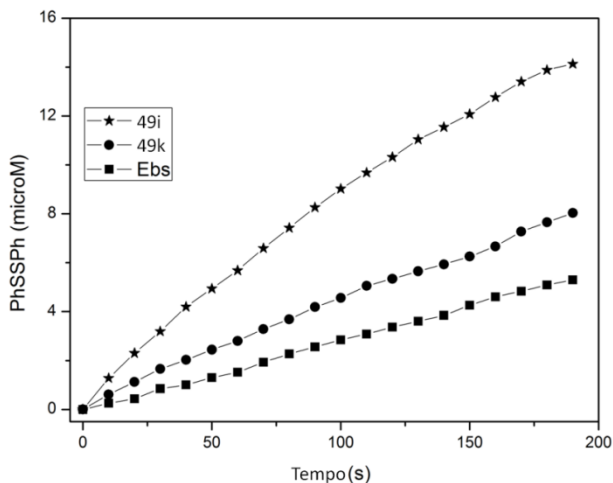
Por fim, comparando os dois fragmentos, selenoéster benzílico **49k** e DHPM sem selênio **54**, fica claro mais uma vez que a junção dos dois grupamentos, culminando no composto **49a** é vantajosa, uma vez que há um sinergismo, pois a atividade é maior que nos outros dois separadamente. Todavia, fica claro que o composto **54**, também apresenta atividade relevante, assim como **49k**, que é o segundo mais ativo da série.

4.9. Avaliação da atividade *GPx-Like*

Os compostos sintetizados tiveram seu potencial como miméticos da enzima GPx avaliado pelo método de Tomoda (IWAOKA; TOMODA, 1994), o qual utiliza tiofenol (PhSH) como um substituto da glutathiona. Este método consiste no monitoramento da oxidação do tiol ao seu respectivo dissulfeto (PhSSPh), mediada por peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A formação do dissulfeto é verificada por espectrofotometria de UV-vis em 305 nm.

Todos os selenoésteres foram submetidos ao teste, entretanto, para a maioria dos compostos não foi possível a avaliação da atividade *GPx-Like* pelo método de Tomoda, pois os compostos apresentam absorção na região de 305 nm. Sendo assim, somente os compostos **49i** e **49k** puderam ter sua atividade *GPx-like* avaliada, pois não apresentaram absorção em 305 nm. Os resultados podem ser observados no Gráfico 3 e na Tabela 5. O ebselen (Ebs) foi utilizado como padrão positivo.

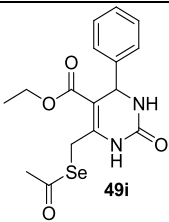
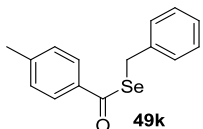
Gráfico 3 - Formação de PhSSPh catalisada pelos compostos **49i**, **49k**, e Ebselen.



No Gráfico 3 é possível observar um aumento da formação de dissulfeto de difenila (PhSSPh) em função do tempo após a adição do H_2O_2 à solução reacional contendo o

solvente (1ml), tiofenol (2,0mM) e os catalisadores (0,1mM). É possível observar que a concentração do PhSSPh aumenta em função do tempo, e que o composto **49i** catalisa a reação mais eficientemente.

Tabela 5 - Atividade GPx-like dos compostos **49i**, **49k** e Ebselen.

$2 \text{ PhSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow[\text{MeOH}]{\text{Catalisador (0,1mM)}} \text{PhSSPh} + 2 \text{H}_2\text{O}$		
Catalisador ^a	T ₅₀ ^{b,c} (min)	Eficiência relativa ao Ebselen
 49i	61,9 (±4,60)	2,42
 49k	104,04 (±0,40)	1,44
Ebselen	149,67 (±1,65)	1

^a MeOH (1 mL); catalisador (0,1 mM); PhSH (2 mM); H₂O₂ (5 mM)

^b T₅₀ é o tempo necessário, em minutos para reduzir a concentração do tiol em 50% após a adição do H₂O₂. ^c Dado em parenteses: erro experimental.

Na Tabela 5 são observados os valores de T₅₀ para os compostos avaliados. Os selenoésteres avaliados apresentaram atividade *GPx-like* superior ao padrão ebselen. O composto **49i** apresentou um valor de T₅₀ igual a 61,9 (±4,60) sendo 2,42 vezes superior ao ebselen. O fragmento **49k** também mostrou atividade *GPx-like* superior ao padrão, apresentando um valor de T₅₀=104,04 (±0,40), sendo 1,44 vezes superior ao ebselen.

Em suma, visto que o composto **49i** apresentou uma atividade *GPx-like* relevante, pode-se dizer que a série dos demais selenoésteres sintetizados apresentam potencial para serem bons miméticos da GPx.

5. Considerações finais, conclusões e perspectivas

Levando em consideração os objetivos propostos para o trabalho realizado, algumas conclusões podem ser feitas:

- Foi possível sintetizar e caracterizar uma série de 6-cloro-DHPM com bons rendimentos e fácil purificação, as quais foram usadas como materiais de partida para a síntese dos derivados selenoésteres.
- Partindo das 6-cloro-DHPM foi realizada a síntese e caracterização de uma série de selenoésteres, que foram obtidos com rendimentos moderados.
- Os selenoésteres tiveram sua atividade antioxidante avaliada em diferentes ensaios, e demonstraram excelente capacidade de inibir a peroxidação lipídica, quelar íons Fe^{2+} , e apresentam potencial como miméticos da enzima GPx.
- Ademais, os compostos ainda apresentaram excelentes resultados como inibidores da enzima Acetilcolinesterase.
- Sendo assim, os selenoésteres-DHPM, principalmente **49a**, se mostram como potenciais fármacos multi-alvo para o tratamento da DA.
- Como perspectivas do trabalho, ficam a possibilidade de avaliação dos compostos em modelos da DA *in vivo*, e a publicação dos resultados na forma de um artigo científico em um periódico reconhecido na área da química medicinal.

6. Experimental

6.1. Solventes e reagentes

Os solventes foram purificados antes de serem utilizados, conforme técnicas usuais. Os reagentes restantes foram obtidos de fontes comerciais (Aldrich, Merck, Fluka, Nuclear, Synth) e utilizados sem prévia purificação.

As placas de cromatografia em camada delgada utilizadas neste trabalho para o acompanhamento das reações foram obtidas de fontes comerciais já mencionadas e eram compostas de folha de alumínio impregnada com Sílica Gel 60 GF₂₅₄ (0,20 mm). Utilizou-se, como método de revelação, cuba de iodo, luz ultravioleta e solução ácida de vanilina. Para os produtos purificados utilizando cromatografia em coluna, o material usado foi uma coluna de vidro, sílica gel 60 (230-400 mesh – MERCK) e, como eluente, um solvente ou mistura de solventes adequados.

6.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono

Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance 200 ou Varian AS-400, operando em 200MHz e 400MHz, respectivamente (Central de Análises / Departamento de Química – UFSC). As amostras foram dissolvidas em clorofórmio ou dimetil sulfoxido deuterados, empregando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno para os espectros de RMN de ¹H e para os espectros de RMN de ¹³C o padrão interno foi o CDCl₃ ou DMSO-d₆. Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), e entre parênteses estão a multiplicidade (s = singlete, d = dubleto, dd = duplo dubleto, t = tripleto, m = multipeto, sl = singlete largo), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa e a constante de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz).

6.3. Espectrometria de massas de alta resolução

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos a partir de um aparelho Bruker MicrOTOF-Q II (Bruker Daltonics, Billerica, EUA) operando em modo APPI (Fotoionização à Pressão Atmosférica) ou APCI (Ionização química à Pressão Atmosférica) no CEBIME – Laboratório Central de Biologia Molecular Estrutural.

6.4. Ponto de fusão

Os valores de ponto de fusão (p.f.) foram determinados em aparelho MQ APF-301, não aferido.

6.5. Rotaevaporadores

Para remoção dos solventes das soluções orgânicas, foram utilizados:

- Rotaevaporador - M Büchi HB -140;
- Linha de vácuo equipada com uma bomba de alto-vácuo Vacuumbrand modelo RD 4, 4,3 m³/ h.

6.6. Espectroscopia na região do infravermelho

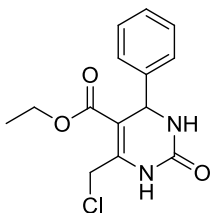
Os espectros de infravermelho dos compostos foram obtidos em um espectrômetro Varian 3100 FT-IR. As análises foram realizadas na Central de Análises do Depto. De Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

6.7. Procedimento geral para a síntese das 6-cloro-diidropirimidinonas

Em um balão de duas bocas foram colocados o aldeído aromático (15 mmol), o 4-Cl-acetoacetato de etila (15 mmol), a uréia ou N-metil uréia (30 mmol) e 5 gotas de HCl concentrado. O meio reacional foi aquecido sob agitação pelo tempo necessário em um banho de óleo pré-aquecido a 100°C. Após o término da reação verificado por cromatografia em camada delgada, foi feita a adição da mistura reacional a

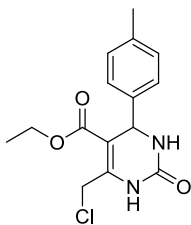
um Becker contendo gelo triturado. O sólido formado foi filtrado e lavado com porções de água gelada, e posteriormente foi seco sob vácuo.

Os produtos foram utilizados posteriormente sem purificação prévia, uma vez que se encontravam com um grau de pureza aceitável. Os dados das análises espectroscópicas dos produtos obtidos seguem abaixo.



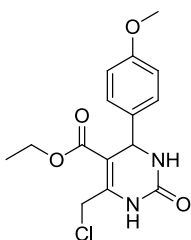
Etil4-(fenil)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46a):

Rendimento:70% , Sólido amarelo, P.F.: 173 – 175°C (Lit. 174 – 176°C (SHARGHI; JOKAR, 2009a)) **RMN ¹H (200MHz, DMSO-d⁶):** σ = 1,11(t, $J=7,1$ Hz, 3H); 4,04(q, $J=7,3$ Hz, 2H); 4,59(d, $J=10,6$ Hz, 1H); 4,78(d, $J=10,6$ Hz, 1H); 5,20(d, $J=3,3$ Hz, 1H); 7,24 – 7,37(m, 5H); 7,85(s, 1H); 9,49(s, 1H). **RMN ¹³C (50MHz, DMSO-d⁶):** δ = 13,83; 30,62; 53,89; 59,91; 101,77; 126,26; 127,55; 128,49; 143,93; 145,98; 152,00; 164,18. **HRMS (APPI)** m/z calculado para C₁₄H₁₅ClN₂O₃ [M+H] 295,0844; encontrado 295,0847.



Etil4-(fenil-4-metil)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46b):

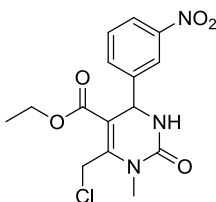
Rendimento:76%, Sólido amarelo, P.F.: 165 – 168°C (Lit. 164-166 °C (SHARGHI; JOKAR, 2009a)). **RMN ¹H (200MHz, DMSO-d⁶):** δ = 1,17(t, $J=7,3$ Hz, 3H); 2,30(s, 3H); 4,09(q, $J=6,6$ Hz, 2H); 4,68(d, $J=12,4$ Hz, 1H); 4,78(d, $J=12,4$ Hz, 1H); 5,35(d, $J=2,93$ Hz, 1H); 6,47(s, 1H); 7,09(d, $J=8,0$ Hz, 2H); 7,18(d, $J=8,0$ Hz, 2H); 8,53(s, 1H). **RMN ¹³C (50MHz, DMSO-d⁶):** δ = 13,87; 20,62; 39,20; 53,59; 59,91; 101,97; 126,18; 129,00; 136,75; 141,02; 145,76; 152,07; 164,21. **HRMS (APPI)** m/z calculado para C₁₅H₁₇ClN₂O₃ [M+H] 309,1000; encontrado 309,0999.



Etil 4-(fenil-4-metoxi)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46c):

Rendimento: 98%, Sólido amarelo, P.F.: 183 – 185°C (Lit. 185-186 (LEBED' et al., 2009)).

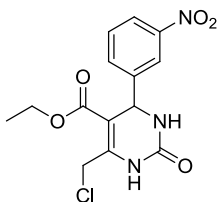
RMN ^1H (200MHz, DMSO- d_6): δ = 1,12 (t, $J=6,8\text{Hz}$, 3H); 3,72 (s, 3H); 4,04 (q, $J=7,3\text{Hz}$, 2H); 4,60 (d, $J=10,3\text{Hz}$, 1H); 4,77 (d, $J=10,8\text{Hz}$, 1H); 5,14 (d, $J=2,9\text{Hz}$, 1H); 6,89 (d, $J=8,8\text{Hz}$, 2H); 7,17 (d, $J=8,3\text{Hz}$, 2H); 7,77 (s, 1H); 9,45 (s, 1H). **RMN ^{13}C (50MHz, DMSO- d_6):** δ = 13,97; 39,32; 53,37; 55,15; 60,04; 102,24; 113,93; 127,57; 136,16; 145,69; 152,16; 158,77; 164,34. **HRMS (APPI) m/z** calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_4$ [M+H] 325,09496; encontrado 325,09485.



Etil 4-(fenil-3-nitro)-6-clorometil-1-metil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46d):

Rendimento: 82%, Sólido marrom claro, P.F.: 183 – 186°C.

RMN ^1H (200MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1,16 (t, $J=7,0\text{Hz}$, 3H); 3,24 (s, 3H); 4,12 (q, $J=7,0\text{Hz}$, 2H); 5,03 (d, $J=11,6\text{Hz}$, 1H); 5,20 (d, $J=12,1\text{Hz}$, 1H); 5,37 (d, $J=4,0\text{Hz}$, 1H); 7,68 – 7,71 (m, 2H); 8,12 – 8,18 (m, 2H); 8,31 (d, $J=3,5\text{Hz}$, 1H). **RMN ^{13}C (50MHz, DMSO- d_6):** δ = 18,62; 29,61; 51,95; 56,10; 65,32; 95,68; 121,46; 122,96; 130,24; 133,69; 144,43; 147,87; 151,08; 161,93; 169,94. **HRMS (APPI) m/z** calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_5$ [M+H] 354,0851; encontrado 354,0857.

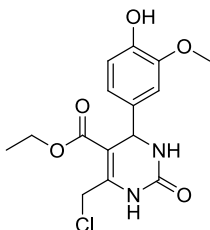


Etil 4-(fenil-3-nitro)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46e):

Rendimento: 80%, Sólido amarelo, P.F.: 160 – 163 °C (Lit. 162-164°C (SHARGHI; JOKAR, 2009a)).

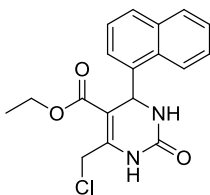
RMN ^1H (200MHz, DMSO- d_6): δ = 1,11 (t, $J=7,3\text{Hz}$, 3H); 4,04 (q, $J=6,8\text{Hz}$, 2H); 4,62 (d, $J=10,7\text{Hz}$, 1H); 4,78 (d, $J=10,7\text{Hz}$, 1H); 5,37 (d, $J=3,4\text{Hz}$, 1H); 7,62 – 7,73 (m, 2H); 8,02 (s, 1H); 8,12 – 8,16 (m, 2H); 9,69 (s, 1H). **RMN ^{13}C**

(50MHz, DMSO – d⁶): δ = 14,22; 53,83; 60,56; 101,14; 121,55; 123,05; 130,76; 133,44; 146,48; 147,53; 148,27; 152,14; 164,35. **HRMS (APPI)** m/z calculado para C₁₄H₁₄ClN₃O₅ [M+H] 340,06947; encontrado 340,06950.



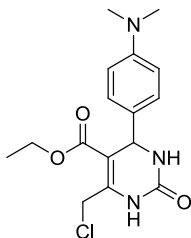
Etil4-(fenil-3-metoxi-4-hidroxi)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46f):

Rendimento:78%, Sólido amarelo, P.F.: 163 – 165°C. **RMN ¹H (200MHz, DMSO-d⁶):** δ = 1,12 (t, J =7,1Hz, 3H); 3,72 (s, 3H); 4,04 (q, J =7,2Hz, 2H); 4,65(d, J =10,6Hz, 1H); 4,72(d, J =10,6Hz, 1H) 5,10(d, J =3,3Hz, 1H); 6,65 (d, J =1,86Hz, 1H); 6,70 (s, 1H); 6,81 (d, J =1,60, 1H); 7,75 (s, 1H); 9,42 (s, 1H). **RMN ¹³C (50MHz, DMSO-d⁶):** δ = 14,04; 53,65; 55,61; 60,03; 102,19; 110,77; 115,46; 118,65; 135,07; 145,69; 146,16; 147,50; 152,27; 164,44. **IV (KBr),(v, cm⁻¹):**1650; 1683; 2835; 2974; 3106; 3245; 3367; 3567. **HRMS (APPI)** m/z calculado para C₁₅H₁₇ClN₂O₅ [M+H] 341,0899; encontrado 341,0898.



Etil4-(1-naftil)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (46g):

Rendimento:85%, Sólido amarelo, P.F.: 132 – 135°C. **RMN ¹H (200MHz, DMSO-d⁶):** δ = 0,82 (t, J =7,1Hz, 3H); 3,77 – 3,94(m, 2H); 4,75(d, J =10,5Hz, 1H); 4,86(d, J =10,6Hz, 1H); 6,13(d, J =3,1Hz, 1H); 7,47 – 7,64 (m, 4H); 7,83 – 7,97 (m, 3H); 8,32 (d, J =7,8Hz 1H); 9,58 (s, 1H). **RMN ¹³C (50MHz, DMSO-d⁶):** δ = 13,67; 39,40; 49,72; 59,84; 101,87; 123,67; 124,31; 125,73; 125,82; 126,24; 128,27; 128,54; 130,04; 133,55; 139,70; 146,44; 151,67; 164,23. **IV (KBr),(v, cm⁻¹):** 1656; 1697; 2980; 3245. **HRMS (APPI)** m/z calculado para C₁₈H₁₇ClN₃O₃ [M+H] 345,1000; encontrado 345,1004.



Etil 4-(fenil-4-dimetilamino)-6-clorometil-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (46h):

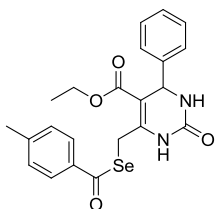
Rendimento: 30%, Sólido amarelo, P.F.: 161 – 164°C. **RMN ¹H (200MHz, DMSO-d⁶):** δ = 1,13(t, J=7,1Hz, 3H); 2,85(s, 6H); 4,03(q, J=7,1Hz, 2H); 4,60(d, J=10,5Hz, 1H); 4,75(d, J=10,5Hz, 1H); 5,08(d, J=3,2Hz, 1H); 6,66(d, J=8,8Hz, 2H); 7,06(d, J=8,7Hz, 2H); 7,70(sl, 1H); 9,38(sl, 1H).

RMN ¹³C (50MHz, DMSO-d⁶): δ = 13,94; 39,29; 40,18; 53,28; 59,86; 102,44; 112,31; 126,97; 145,18; 149,83; 152,16; 164,35. **IV (KBr), (ν, cm⁻¹):** 1615; 1638; 1689; 2811; 2929; 2978; 3127; 3233; 3363. **HRMS (APPI) m/z** calculado para C₁₆H₂₀ClN₃O₃ [M+H] 338,1266; encontrado 338,1269.

6.8. Procedimento geral para a síntese dos selenoésteres

Em um balão de duas bocas, munido de barra magnética de agitação, sob atmosfera de argônio, foi suspenso o selênio (3,6mmol) em etanol. A essa suspensão foi adicionado aos poucos, boro-hidreto de sódio (7,2mmol), neste momento ocorre evolução de gás e o meio reacional torna-se incolor. Após a adição do borohidreto de sódio esperou-se cessar o desprendimento de gás e adicionou-se o cloreto de ácido adequado (3,6mmol), o meio reacional torna-se alaranjado/vermelho. Após 30 minutos adicionou-se o eletrófilo adequado (DHPM ou Brometo de benzila) (3 mmol). A reação foi monitorada por CCD até o consumo total do eletrófilo. A mistura reacional foi então extraída com acetato de etila e água, e a fase orgânica seca com MgSO₄ e o solvente removido sob vácuo. O produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna eluindo-se com uma mistura apropriada de hexano/acetato de etila.

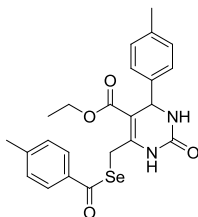
Os dados das análises espectroscópicas dos produtos obtidos seguem abaixo.



Etil4-(fenil)-6-((4-metilselenobenzoato)metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (49a):

Rendimento: 40%, sólido amarelo claro, P.F.: 135 – 138°C.

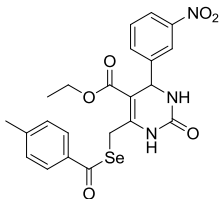
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,15 (t, $J=6,8\text{Hz}$, 3H); 2,39 (s, 3H); 4,07(q, $J=6,8\text{Hz}$, 2H); 4,28(d, $J=12,7\text{Hz}$, 1H); 4,35(d, $J=11,7\text{Hz}$, 1H); 5,35(d, $J=2,9\text{Hz}$, 1H); 6,62(s, 1H); 7,22 – 7,27(m, 7H); 7,65 (s, 1H); 7,79(d, $J=7,8\text{Hz}$, 2H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ = 13,94; 21,68; 22,89; 55,30; 60,21; 101,07; 126,54; 127,54; 127,74; 128,54; 129,49; 135,46; 143,41; 145,32; 148,42; 152,46; 165,19; 195,80. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1605; 1636; 1662; 1691; 1717; 1882; 1903; 1956; 1980; 2855; 2872; 2927; 2959; 2976; 3027; 3127; 3245. **HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{Se}$ [M+H] 459,0819; encontrado 459,0822.**



Etil4-(fenil-4-metil)-6-((4-metilselenobenzoato)metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (49b):

Rendimento: 53%, sólido amarelo claro, P.F.: 158 – 160°C.

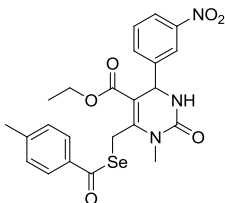
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,18 (t, $J=7,1\text{Hz}$, 3H); 2,29 (s, 3H); 2,41 (s, 3H); 4,09 (q, $J=7,1\text{Hz}$, 2H); 4,25 – 4,39 (m, 2H); 5,33(d, $J=2,9\text{Hz}$, 1H); 5,97 (s, 1H); 7,09(d, $J=8,1\text{Hz}$, 2H); 7,19 (d, $J=8,1\text{Hz}$, 2H); 7,27(d, $J=8,1\text{Hz}$, 2H); 7,47 (s, 1H); 7,81(d, $J=8,2\text{Hz}$, 2H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ = 13,99; 21,00; 21,70; 22,91; 55,06; 60,24; 101,30; 126,46; 127,57; 129,23; 129,51; 135,48; 137,47; 140,55; 145,35; 148,22; 152,50; 165,25; 195,90. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1628; 1699; 2823; 2853; 2925; 2980; 3049; 3106; 3222; 3349. **HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{Se}$ [M+H] 473,0975; encontrado 473,0979.**



Etil4-(fenil-3-nitro)-6-((4-metilselenobenzoato)metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49c):

Rendimento:30%, sólido amarelo claro, P.F.: 169 – 173°C.

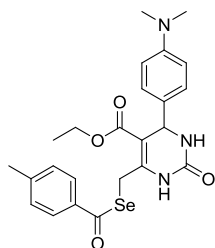
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,19 (t, J =7,1Hz, 3H); 2,41 (s, 3H); 4,11(q, J =7,2Hz, 2H); 4,27(d, J =12,3 Hz, 2H); 4,39(d, J =12,3 Hz, 2H); 5,48(d, J =3,2Hz, 1H); 7,01 (s, 1H); 7,26 (d, J =8,2 Hz, 2H); 7,43 (t, J =7,9Hz, 1H); 7,63 – 7,70(m, 2H); 7,79 (d, J =8,2 Hz, 2H); 8,03 – 8,09 (m, 1H); 8,16 (t, J =1,9 Hz, 1H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ = 13,82; 21,53; 22,80; 54,29; 60,44; 99,90; 121,56; 122,56; 127,35; 129,41; 129,55; 132,67; 135,17; 145,34; 147,92; 149,48; 152,70; 164,62; 195,39. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1603; 1634; 1644; 1693; 1713; 1937; 2868; 2935; 2947; 2978; 3114; 3196; 3239; 3310. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]$ 504,0670; encontrado 504,0668.



Etil4-(fenil-3-nitro)-6-((4-metilselenobenzoato) metil)-1-metil -2-oxo-1, 2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49d):

Rendimento:55%, sólido branco, P.F.: 63 – 65°C.

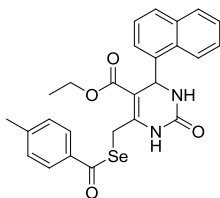
RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz): δ (ppm) 1,22 (t, J =7,1Hz, 3H); 2,41 (s, 3H); 3,29 (s, 3H); 4,16(q, J =7,1Hz, 2H); 4,64(sl, 2H); 5,50(d, J =3,5Hz, 1H); 7,27(d, J =8,3Hz, 3H); 7,46(t, J =7,6 Hz, 1H); 7,59 (d, J =7,9 Hz, 1H); 7,80(d, J =8,0Hz, 1H); 8,07 – 8,15(m, 2H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 13,95; 21,59; 22,44; 29,94; 52,39; 60,73; 104,09; 121,48; 122,57; 127,26; 129,51; 129,56; 132,03; 135,39; 144,86; 145,17; 148,11; 150,82; 154,20; 164,96; 192,81. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1685; 2880; 2925; 2955; 2980; 3090; 3235. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]$ 518,0826; encontrado 518,0827.



Etil4-(fenil-4-dimetilamino)-6-((4-metilselenobenzoato)metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49e):

Rendimento: 34%, sólido amarelo, P.F.: 179 – 182°C.

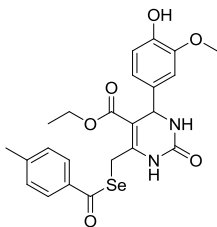
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,20(t, $J=7,3\text{Hz}$, 3H); 2,42(s, 3H); 2,91(s, 6H); 4,08(q, $J=7,1\text{Hz}$, 2H); 4,27(d, $J=12,2\text{Hz}$, 1H); 4,36(d, $J=12,2\text{Hz}$, 1H); 5,27(d, $J=2,7\text{Hz}$, 1H); 5,51(sl, 1H); 6,63(d, $J=8,8\text{Hz}$, 2H); 7,16(d, $J=8,8\text{Hz}$, 2H); 7,27(d, $J=8,1\text{Hz}$, 2H); 7,34(sl, 1H); 7,81(d, $J=8,3\text{Hz}$, 2H). **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3):** δ = 14,10; 21,79; 22,94; 40,45; 55,14; 60,26; 101,70; 112,36; 127,50; 127,66; 129,58; 131,41; 135,52; 145,45; 147,71; 150,19; 152,15; 165,44; 196,27. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1615; 1630; 1687; 1713; 2809; 2923; 2980; 3110; 3227; 3369. **HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{Se}$ [M+H] 502,1241; encontrado 502,1241.**



Etil4-(1-naftil)-6-((4-metilselenobenzoato)metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49f):

Rendimento: 30%, sólido amarelo claro, P.F.: 174 – 177°C.

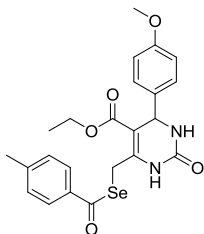
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 0,74 (t, $J=7,1\text{Hz}$, 3H); 2,31 (s, 3H); 3,72 – 3,88 (m, 2H); 4,20(d, $J=12,2\text{Hz}$, 1H); 4,45(d, $J=12,2\text{Hz}$, 1H); 6,07 (s, 2H); 7,15 – 7,44(m, 6H); 7,56 – 7,76(m, 5H); 7,95(d, $J=8,1\text{Hz}$, 1H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ = 13,69; 21,70; 22,89; 50,79; 60,07; 100,27; 122,16; 124,50; 125,58; 126,51; 127,59; 128,46; 128,85; 129,55; 130,14; 133,85; 135,50; 138,38; 145,39; 149,05; 151,86; 165,21; 195,82. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1640; 1695; 2853; 2925; 2955; 2976; 3110; 3233. **HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{Se}$ [M+H] 509,0976; encontrado 509,0975.**



Etil-4-(fenil-3-metóxi-4-hidróxi)-6-((4-metilselenobenzoato) metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49g):

Rendimento: 41%, sólido branco, P.F.: 168 – 170°C.

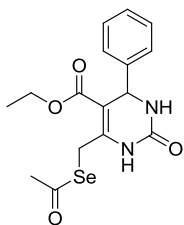
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,10 (t, $J=7,0\text{Hz}$, 3H); 2,37 (s, 3H); 3,67 (s, 3H); 4,02 (q, $J=7,0\text{Hz}$, 2H); 4,27(d, $J=11,2\text{Hz}$, 1H); 4,37(d, $J=11,0\text{Hz}$, 1H); 5,07(d, $J=3,2\text{ Hz}$, 1H); 6,61 – 6,71 (m, 2H); 6,79 (s, 1H); 7,37(d, $J=8,2\text{Hz}$, 2H); 7,78(d, $J=8,2\text{Hz}$, 3H); 8,95 (s, 1H); 9,09 (s, 1H). **RMN ^{13}C (50MHz, $\text{DMSO}-d_6$):** δ = 14,06; 21,29; 23,81; 53,72; 55,52; 59,74; 100,87; 110,61; 115,32; 118,66; 127,01; 129,95; 135,37; 135,42; 145,23; 146,00; 147,42; 147,93; 152,08; 164,94; 193,35. **IV (KBr), (ν , cm^{-1}):** 1676; 1715; 2843; 2937; 2978; 3012; 3125; 3243; 3406. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]$ 505,0874; encontrado 505,0873.



Etil-4-(fenil-4-metóxi)-6-((4-metilselenobenzoato) metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49h):

Rendimento: 58%, sólido amarelo claro, P.F.: 169 – 170°C.

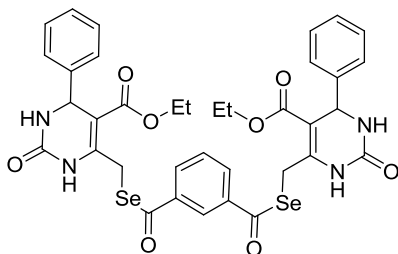
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,17 (t, $J=7,8\text{Hz}$, 3H); 2,41 (s, 3H); 3,75 (s, 3H); 4,08(q, $J=6,8\text{Hz}$, 2H); 4,27(d, $J=11,7\text{Hz}$, 1H); 4,36(d, $J=12,7\text{Hz}$, 1H); 5,31(d, $J=2,9\text{Hz}$, 1H); 6,20 (s, 1H); 6,79(d, $J=8,8\text{Hz}$, 2H); 7,19 – 7,28 (m, 4H); 7,54 (s, 1H); 7,80(d, $J=7,8\text{Hz}$, 2H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ = 13.99; 21.68; 22.93; 54.76; 55.08; 60.21; 101.41; 113.87; 127.55; 127.75; 129.50; 135.48; 135.82; 145.34; 148.02; 152.48; 159.07; 165.25; 195.84. **IV (KBr), (ν , cm^{-1}):** 1697; 2835; 2929; 2957; 3104; 3222; 3351. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]$ 489,0924; encontrado 489,0918.



Etil4-(fenil)-6-((selenoacetato) metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49i):

Rendimento: 44%, sólido amarelo, P.F.: 156 – 158°C.

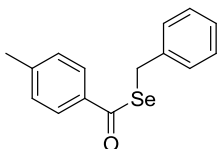
RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,14(t, $J=7,1\text{Hz}$, 3H); 2,47(s, 3H); 4,05(q, $J=7,1\text{Hz}$, 2H); 4,14(s, 2H); 5,34(d, $J=2,9\text{Hz}$, 1H); 6,28(sl, 1H); 7,28(s, 5H); 7,37(sl, 1H). **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3):** δ = 13,88; 23,58; 33,95; 55,09; 60,18; 101,12; 126,46; 127,71; 128,48; 143,33; 148,01; 152,63; 165,05; 199,76. **IV (KBr), (ν , cm^{-1}):** 1632; 1685; 2853; 2927; 2953; 2974; 3029; 3106; 3223; 3359. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]$ 383,0505; encontrado 383,0507.



Fenil-1,3-bis- Etil4-(fenil)-6-((selenoformato) metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (49j):

Rendimento: 20%, sólido amarelo, P.F.: 126 – 128°C.

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ = 1,18(t, $J=7,1\text{Hz}$, 3H); 4,11(q, $J=7,1\text{Hz}$, 2H); 4,38(s, 2H); 5,40(d, $J=2,0\text{Hz}$, 1H); 6,50(sl, 1H); 7,25 – 7,29 (m, 6H); 7,58(t, $J=8,0\text{Hz}$, 1H); 7,85 (sl, 1H); 8,10(d, $J=6,5\text{Hz}$, 1H); 8,35(sl, 1H). **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3):** δ = 14,00; 23,84; 55,35; 60,41; 101,58; 126,11; 126,56; 127,91; 128,64; 129,72; 132,30; 138,68; 143,25; 147,70; 152,66; 165,14; 195,39. **IV (KBr), (ν , cm^{-1}):** 1638; 1695; 2906; 2933; 2978; 3031; 3088; 3237; 3351. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{Se}_2$ $[\text{M}+\text{H}]$ 811,0788; encontrado 811,0786.



Se-Benzil 4- Metilselenobenzoato (49k):

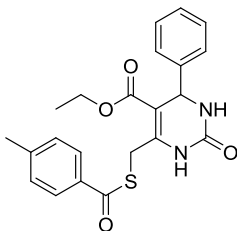
Rendimento: 85%, sólido amarelo claro, P.F.: 54 – 56°C (Lit. 55.2 – 56.0°C (KOKETSU; ASADA; ISHIHARA, 2004)).

RMN ^1H (400MHz, CDCl_3): δ = 2,35(s, 3H); 4,31(s, 2H); 7,20(d, J =7,8Hz, 3H); 7,27(t, J =7,6Hz, 2H); 7,35(d, J =7,4Hz, 2H); 7,78(d, J =8,2Hz, 2H). **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3):** δ = 21,64; 28,81; 126,85; 127,26; 128,51; 128,93; 129,38; 136,16; 139,08; 144,58; 193,76.

6.9. Procedimento geral para a síntese do tioéster

Em um balão de duas bocas, munido de barra magnética de agitação, solubilizou-se o $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (1,5 mmol) em 2ml de água e adicionou-se o NaHCO_3 (1,5 mmol). Após 15 minutos adicionou-se 8ml de etanol (ocorre precipitação de sólido branco). Em seguida adicionou-se o cloreto de ácido (1,5 mmol), e após 15 minutos adicionou-se a DHPM **46a** (1 mmol). A reação foi monitorada por CCD até o consumo total da DHPM. A mistura reacional foi então extraída com acetato de etila e água, e a fase orgânica seca com MgSO_4 e o solvente removido sob vácuo. O produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna eluindo-se com uma mistura apropriada de hexano/acetato de etila.

Os dados das análises espectroscópicas do produto obtido segue abaixo.



Etil4-(fenil)-6-((4-metiltiobenzoato)metil) -2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (52):

Rendimento: 46%, sólido marrom claro, P.F.: 119 – 121°C. **RMN ^1H (200MHz, CDCl_3):** δ = 1,14(t, J =7,2Hz, 3H); 2,39(s, 3H); 4,07(q, J =7,2Hz, 2H); 4,38(s, 2H);

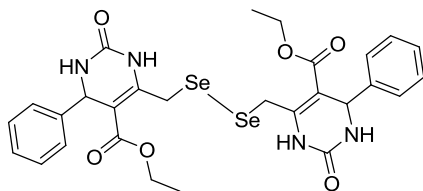
5,34(d, J =2,9Hz, 1H); 6,74(sl, 1H); 7,18 – 7,27(m, 7H); 7,86(m, 3H). **RMN ^{13}C (50MHz, CDCl_3):** δ = 13,87; 21,57; 27,88; 55,20; 60,25; 101,94; 126,47; 127,51; 127,69; 128,48; 129,22; 133,34; 143,22; 144,87; 146,48; 152,53; 165,01; 192,44.

(KBr), (v, cm^{-1}): 1640; 1664; 1699; 1717; 2931; 2976; 3104; 3125; 3241; 3386. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [M+H] 411,1373; encontrado 411,1371.

6.10. Procedimento para a síntese do disseleneto

Em um balão de duas bocas, munido de barra magnética de agitação, solubilizou-se o selenoéster **49a** (1 mmol) em 5ml de etanol, e em seguida adicionou-se 5ml de NaOH 2M. A reação foi monitorada por CCD até o consumo total do selenoéster. A mistura reacional foi então extraída com acetato de etila e água, e a fase orgânica seca com MgSO_4 e o solvente removido sob vácuo. O produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna eluindo-se com uma mistura apropriada de hexano/acetato de etila.

Os dados das análises espectroscópicas dos produtos obtidos seguem abaixo.

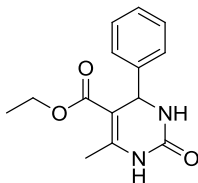


**Dietil6,6'-
(diselenodiilbis(metileno)
)bis(2-oxo-4-fenil-1,2,3,4-
tetraidropirimidina-5-
carboxilato) (53):**

Rendimento: 14%, sólido

amarelo, P.F.: 177 – 180°C. **RMN ^1H (400MHz, DMSO- d^6):** δ = 1,10(t, $J=7,0\text{Hz}$, 6H), 3,99 – 4,02(m, 4H); 4,14 – 4,35(m, 4H); 5,20(s, 2H); 7,24 – 7,34(m, 10H); 7,81(s, 2H); 9,20(s, 2H).

RMN ^{13}C (100MHz, DMSO- d^6): δ = 14,03; 26,97; 54,19; 59,67; 100,16; 126,47; 127,47; 128,46; 144,57; 149,37; 152,24; 165,21. **IV (KBr), (v, cm^{-1}):** 1636; 1699; 2931; 2976; 3031; 3092; 3220; 3308; 3390. **HRMS (APPI)** m/z calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_6\text{Se}_2$ [M+H] 679,0574; encontrado 679,0572.



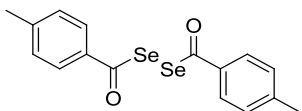
Etil4-(1-fenil)-6-metil-2-oxo-1,2,3,4-tetraidropirimidina-5-carboxilato (54):

Rendimento: 27%, sólido branco, P.F.: 211 - 214°C (Lit.210 - 212°C (CANTO, R. F. S.; BERNARDI, A.; BATTASTINI; M.O.; RUSSOWSKY, D.; EIFLER-LIMA, 2011)).

RMN ¹H (400MHz, DMSO-d⁶): δ = 1,09(t, J =6,6 Hz, 3H); 2,26(s, 3H); 3,98(q, J =7,0Hz, 2H); 5,16(s, 1H); 7,24 - 7,34(m, 5H); 7,77(s, 1H); 9,23(s, 1H). **RMN ¹³C (100MHz, DMSO-d⁶):** δ = 14,13; 17,86; 54,06; 59,28; 99,35; 126,33; 127,34; 128,46; 144,92; 148,42; 152,28; 165,41.

6.11. Procedimento para a tentativa de isolamento do selenocarboxilato

Em um balão de duas bocas, munido de barra magnética de agitação, sob atmosfera de argônio, foi suspenso o selênio (3,6mmol) em etanol. A essa suspensão foi adicionado aos poucos borohidreto de sódio(7,2mmol), neste momento ocorre evolução de gás e o meio reacional torna-se incolor. Após a adição do borohidreto de sódio esperou-se cessar o desprendimento de gás e adicionou-se o cloreto de *p*-toluila (3,6mmol), o meio reacional torna-se alaranjado/vermelho. Após 30 minutos a mistura reacional foi então extraída com acetato de etila e água, a fase orgânica seca com MgSO₄ e o solvente removido sob vácuo. Os dados das análises espectroscópicas do produto obtido seguem abaixo.



Disseleneto de p-toluoila (56):

Rendimento: 51%, sólido amarelo. **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃):** δ = 2,40(s, 3H), 7,27 (d, J = 8,21 Hz, 2H); 7,89(d, J = 8,21 Hz, 2H). **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃):** δ = 21,72; 128,13; 129,66; 134,00; 145,41; 186,65. **HRMS (APCI)** m/z calculado para C₁₆H₁₄O₂Se₂[M+H]⁺ 398,9400; encontrado 398,9399.

6.12. Extração dos fosfolipídeos para o ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Os fosfolipídeos utilizados no teste foram obtidos a partir da extração de gemas de ovos com uma solução 3:2 de hexano-iso-propanol na proporção de 1g de gema para 10 ml da solução. A mistura foi filtrada e concentrada no rotaevaporador. O extrato foi então dissolvido em água destilada na proporção de 10g de extrato para 10ml de água, e esta solução foi utilizada no ensaio do TBARS.

6.13. Ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A inibição da peroxidação lipídica foi determinada medindo a quantidade das Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) como descrito por Ohkawa *et al* (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979) com pequenas modificações. A solução de fosfolipídeos (0,05ml) foi incubada com ou sem a adição de uma solução de sulfato ferroso (100 μ M) e diferentes concentrações dos compostos testados, juntamente com tampão fosfato (0,05M, pH 7,5) e o volume apropriado de água destilada para alcançar o volume final de 1ml. A mistura reacional foi incubada em um banho de água à 37°C por 60 minutos. A reação foi terminada pela adição de 200 μ l de um tampão de ácido acético e ácido tiobarbitúrico (0,6%) respectivamente. A reação começa a desenvolver cor após o incubamento das amostras a 100° por 60 minutos. Após isto, 580 μ l de n-butanol foi adicionada a mistura e a mesma foi centrifugada por 10 minutos a 4000xg. Os níveis de TBARS foram medidos em 532nm usando uma curva padrão de malondialdeído (MDA). Os valores foram expressos em nmolMDA/g de triglicerídeos.

6.14. Atividade quelante de ferro

A habilidade dos compostos em quelar íons Fe^{2+} foi determinada utilizando uma modificação do método descrito por Minotti e Aust (MINOTTI; AUST, 1987) assim como descrito por Olabinri *et al* (OLABINRI *et al.*, 2010). Em um tubo, uma solução recém preparada de FeSO_4 (120 μM) foi adicionada à mistura reacional tamponada com Tris-HCl (0,1 M – pH 7,4) contendo os compostos em diferentes concentrações preparadas em metanol (5 – 100 μM) seguida pela adição de uma solução de NaCl (0,9 % m/v). A mistura reacional foi incubada por 10 minutos a 37°C e em seguida foi adicionada 1,10-fenantrolina (0,25% m/v). Em seguida a absorbância foi medida em 510 nm utilizando um espectrômetro de UV-Vis Cary 50. Como controle, metanol foi usado no lugar das amostras, e BHT foi usado como padrão de agente quelante.

A atividade quelante de Fe^{2+} em porcentagem foi calculada seguindo a seguinte fórmula:

Atividade Quelante de Fe^{2+} (%) = $\frac{[(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) / \text{Abs controle}]}{1} \times 100$

Na fórmula, Abs controle é a absorbância do controle sem as amostras, e Abs amostra é a absorbância na presença da amostra com os compostos.

6.15. Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase

A determinação do efeito inibitório dos compostos frente à enzima acetilcolinesterase (AChE) foi realizada utilizando uma modificação do método descrito por Ellman *et al* (ELLMAN *et al.*, 1961), assim como reportado por Luo e colaboradores (LUO *et al.*, 2014). O meio para o ensaio (1ml) foi composto de água deionizada, tampão fosfato (0,1M, pH 7,4), ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) (0,01M), os compostos testados em cinco diferentes concentrações dissolvidos em metanol, e uma solução de AChE (de Enguia) contendo 0,8 U/ml. Este meio foi incubado a 25°C por 15 minutos. Em seguida, uma solução de iodeto de acetiltiocolina (0,01M) foi

adicionada e a atividade foi determinada pela leitura da absorbância em 412 nm a cada 15 segundos por 5 ou 10 minutos em um espectrômetro UV-Vis Cary 50 a 25°C. O controle foi preparado adicionando metanol no lugar dos compostos testados, e a absorbância obtida foi considerada 100% de atividade. A porcentagem de inibição da AChE (%IA) foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$I(\%) = 100 - (A_{\text{amostra}}/A_{\text{controle}}) \times 100$$

Onde A amostra é a absorbância da amostra, e A controle é a absorbância do controle. Através da plotagem dos dados da porcentagem de inibição versus as concentrações das amostras foi possível estimar os valores de IC₅₀ (concentração do inibidor que inibe 50% da atividade enzimática). O fármaco Galantamina foi utilizado como padrão positivo.

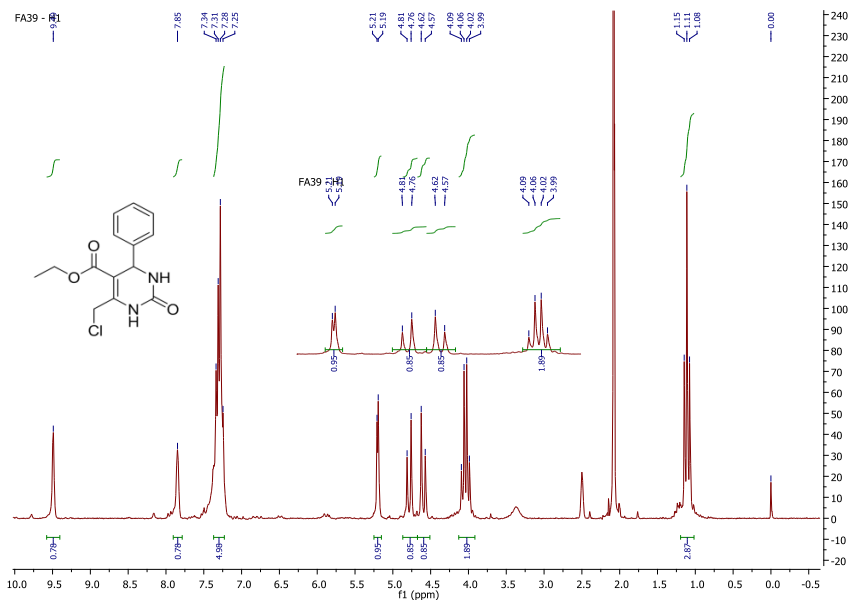
6.16. Avaliação da atividade GPx-Like

A atividade catalítica como miméticos da enzima GPx dos compostos sintetizados foi executada de acordo com o método de Tomoda (IWAOKA; TOMODA, 1994). Em cubeta de quartzo, adicionou-se o catalisador de selênio (concentração final = 0,1 mM), tiofenol (concentração final = 2 mM) e MeOH (1 ml) a 25 (± 3) °C. Programou-se o espectrofotômetro para promover a leitura da absorbância de luz UV no comprimento de onda de 305 nm a cada 10 segundos. Após 120 segundos do início do experimento adicionou-se na cubeta peróxido de hidrogênio (concentração final = 5 mM) e monitorou-se a reação por mais 150 segundos aproximadamente. Cada análise foi feita em triplicata.

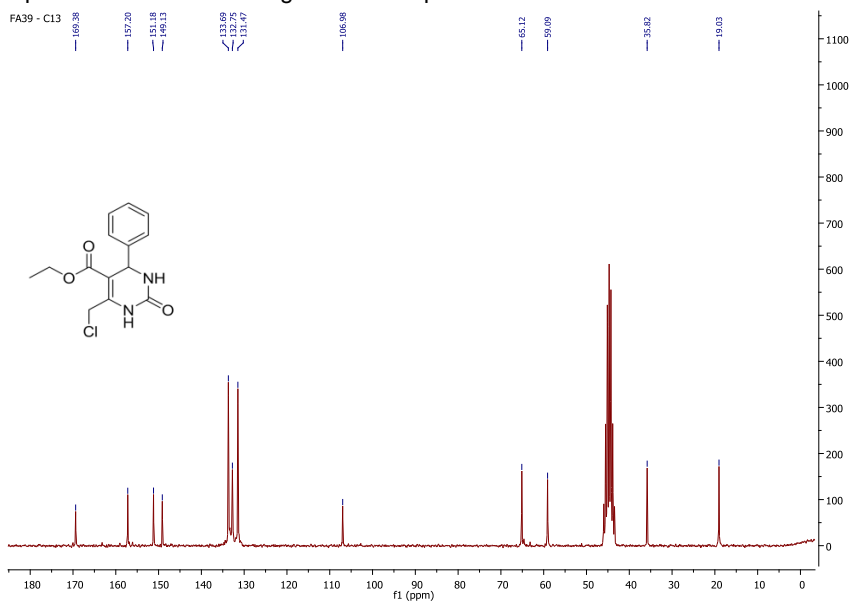
6.17. Análise Estatística

A significância da diferença entre as médias dos grupos experimentais foi avaliada pela análise de variância de uma via (ANOVA) seguido dos testes de Bonferroni ou Tukey. Em todos os casos, os resultados foram considerados significativos quando P<0,05. As análises foram realizadas através do software GraphPad Prism 4.

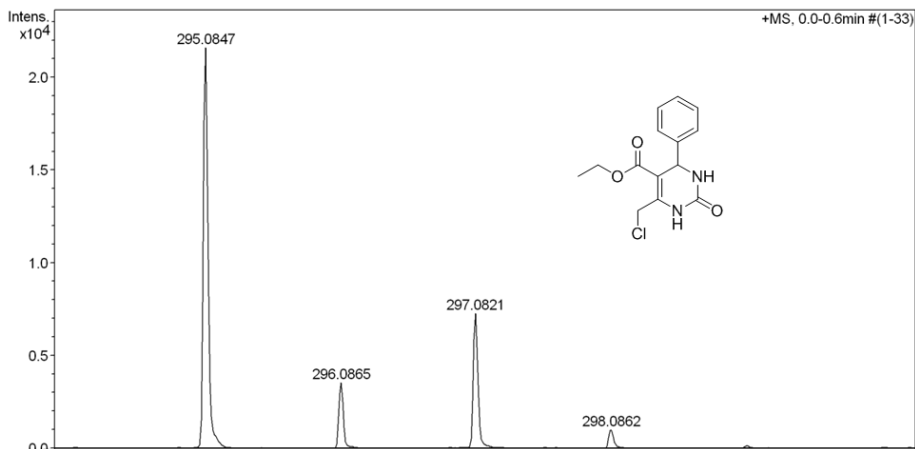
6.18. Seção de espectros



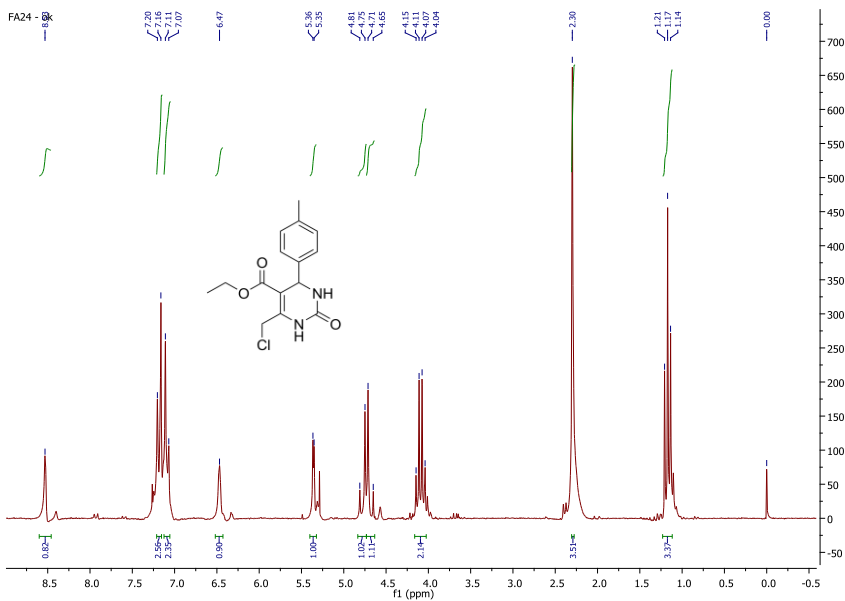
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **46a** em DMSO-d₆ a 200 MHz.



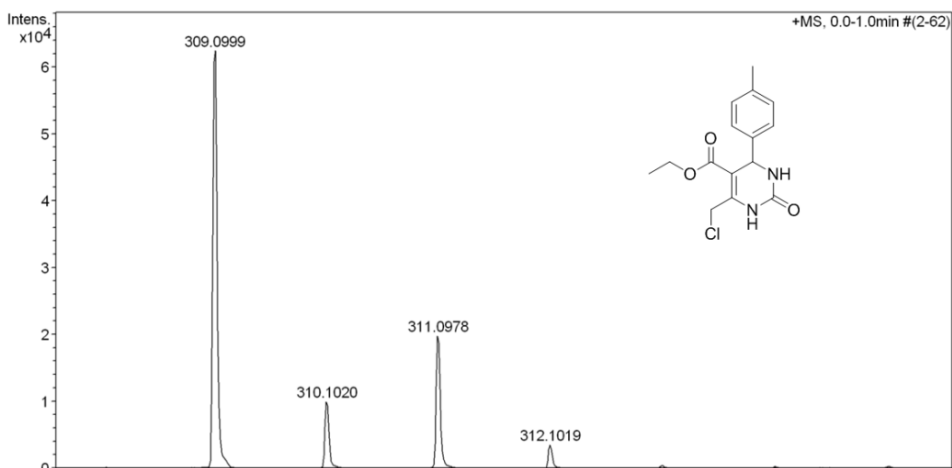
Espectro de RMN de carbono do composto **46a** em DMSO-d₆ a 50 MHz.

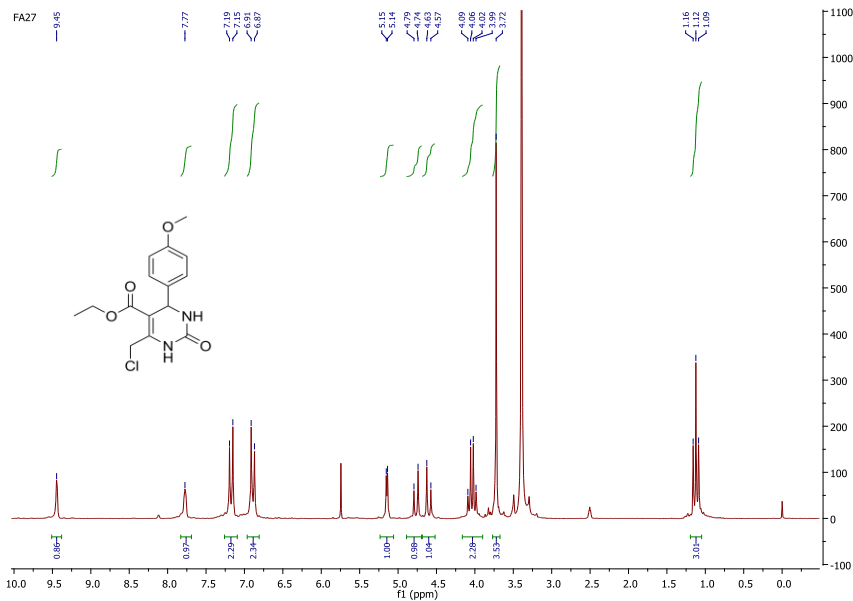


Espectro de massas de alta resolução do composto **46a** utilizando fonte de ionização APPI.

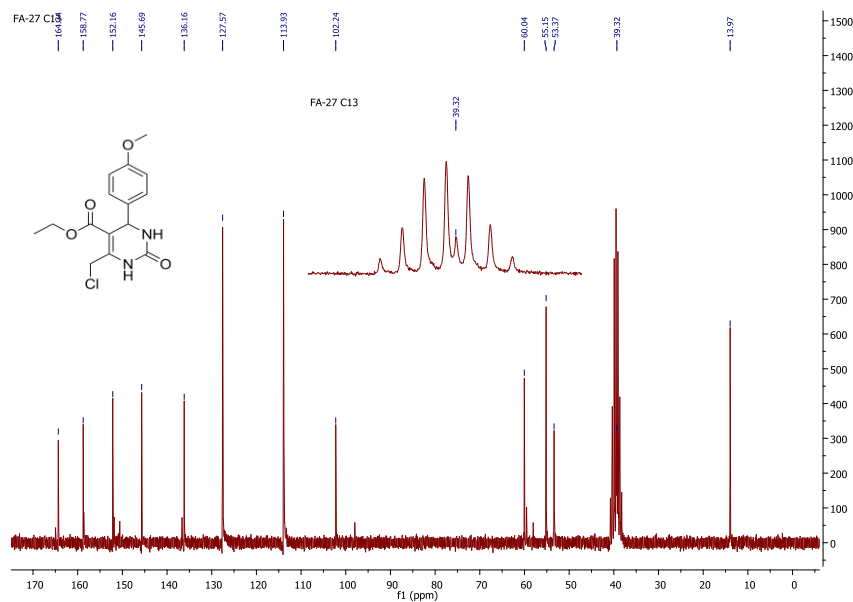


Espectro de RMN de hidrogênio do composto **46b** em DMSO-d₆ a 200 MHz.

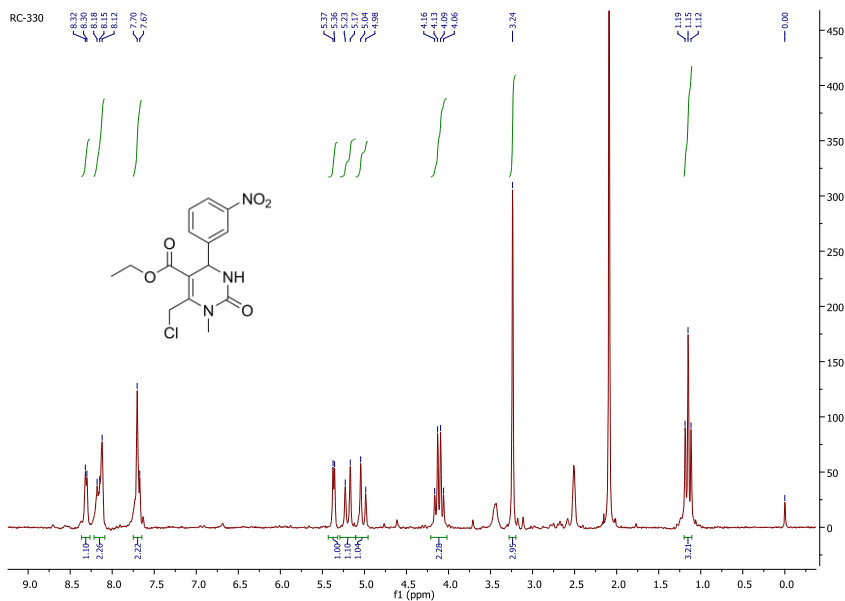
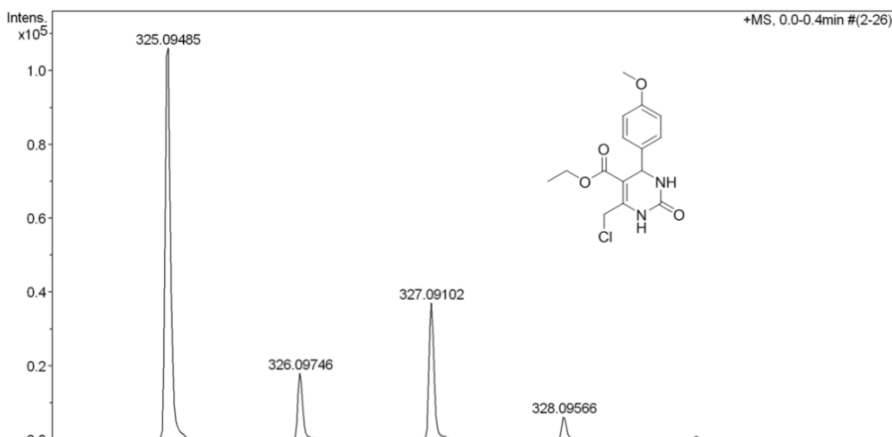


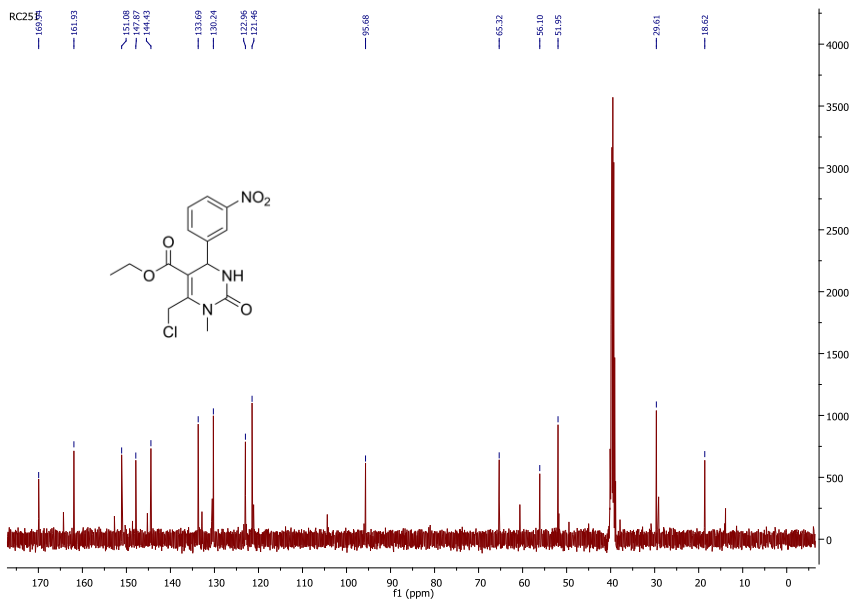


Espectro de RMN de hidrogênio do composto **46c** em DMSO-d₆ a 200 MHz.

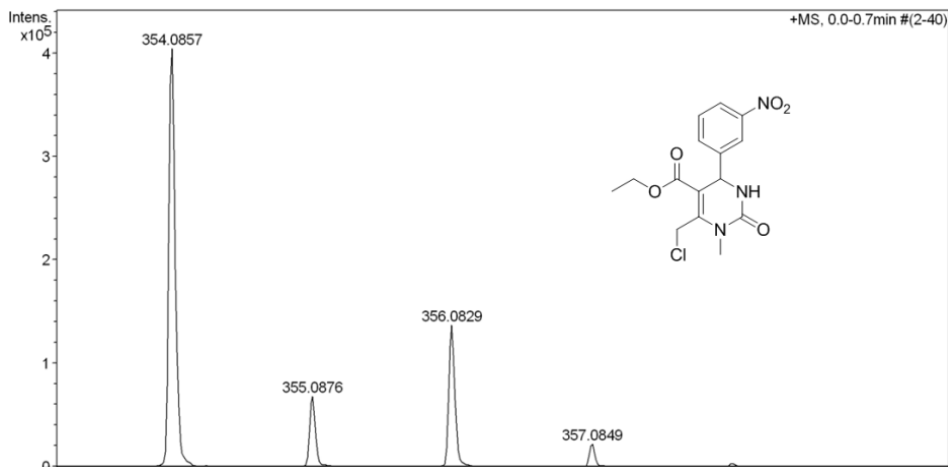


Espectro de RMN de carbono do composto **46c** em DMSO-d₆ a 50 MHz.

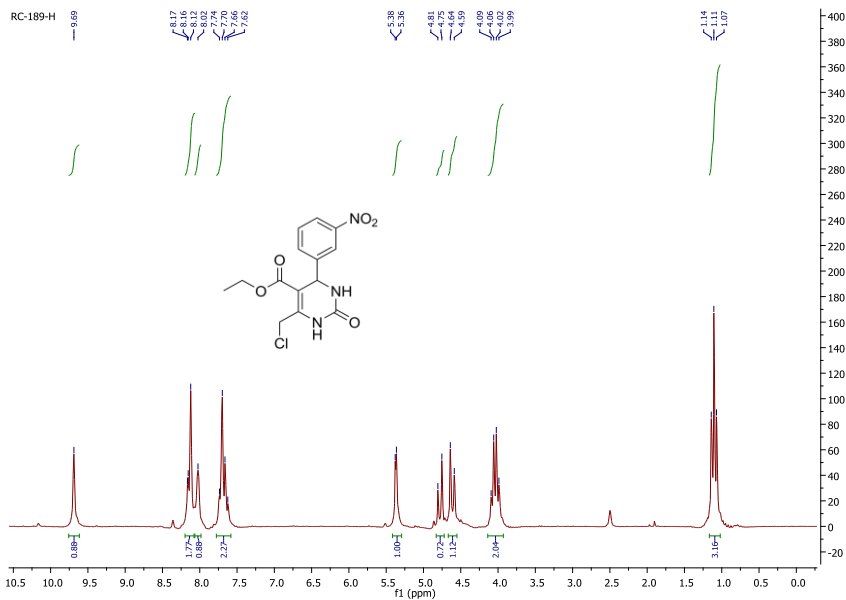




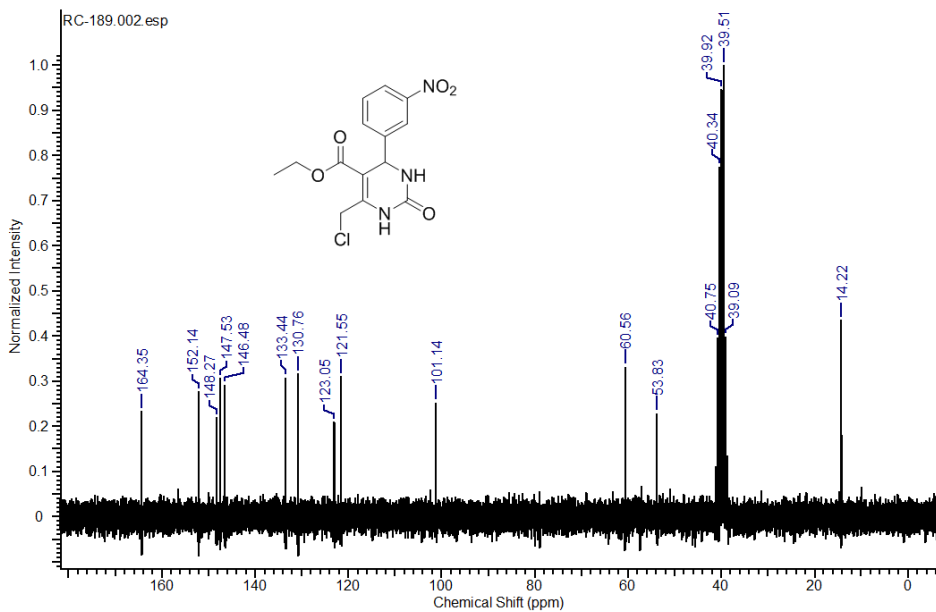
Espectro de RMN de carbono do composto **46d** em DMSO-d₆ a 50 MHz.



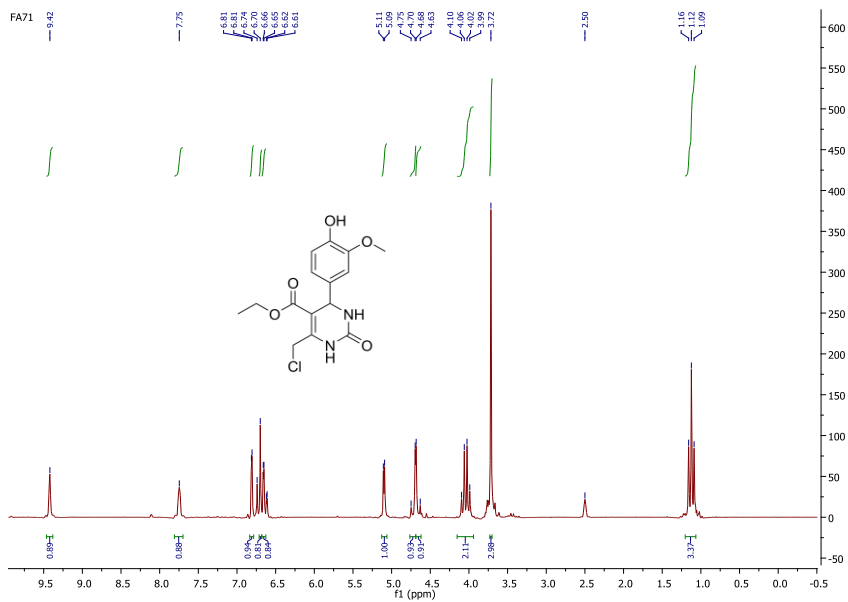
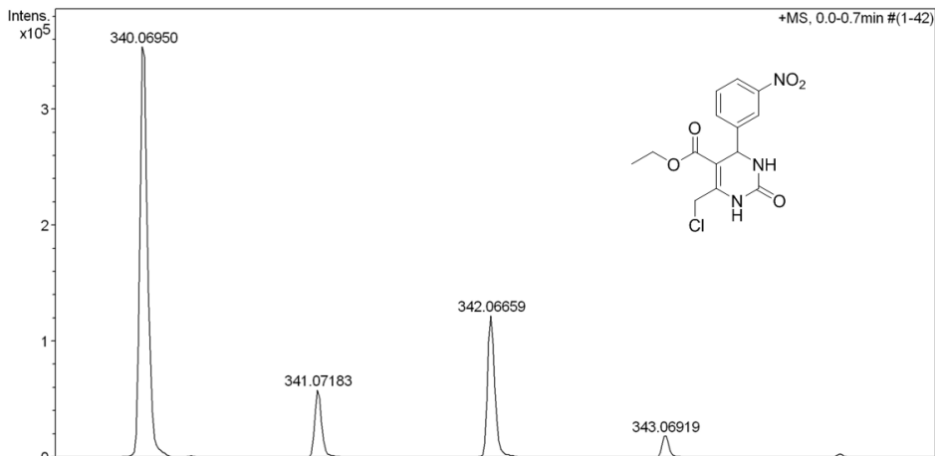
Espectro de massas de alta resolução do composto **46d** utilizando fonte de ionização APPI.

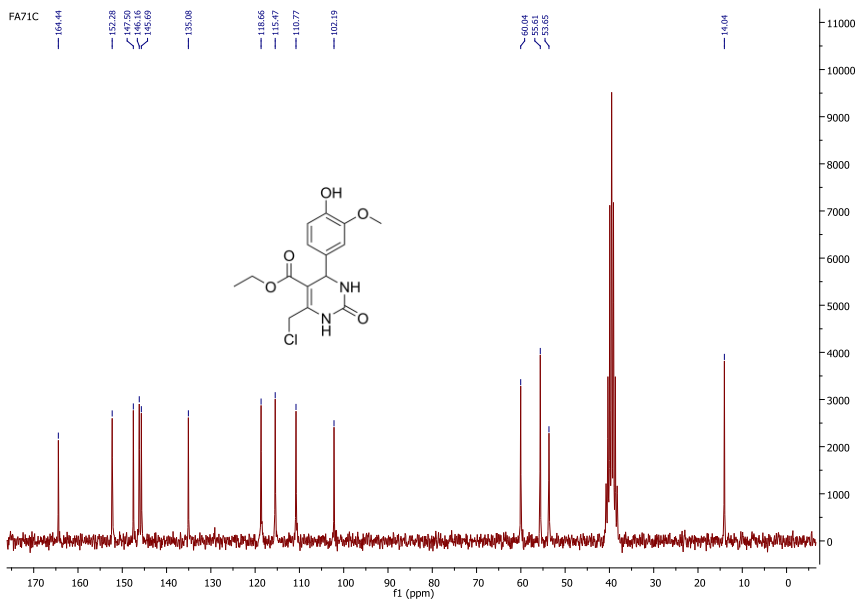


Espectro de RMN de hidrogênio do composto **46e** em DMSO-d₆ a 200 MHz.

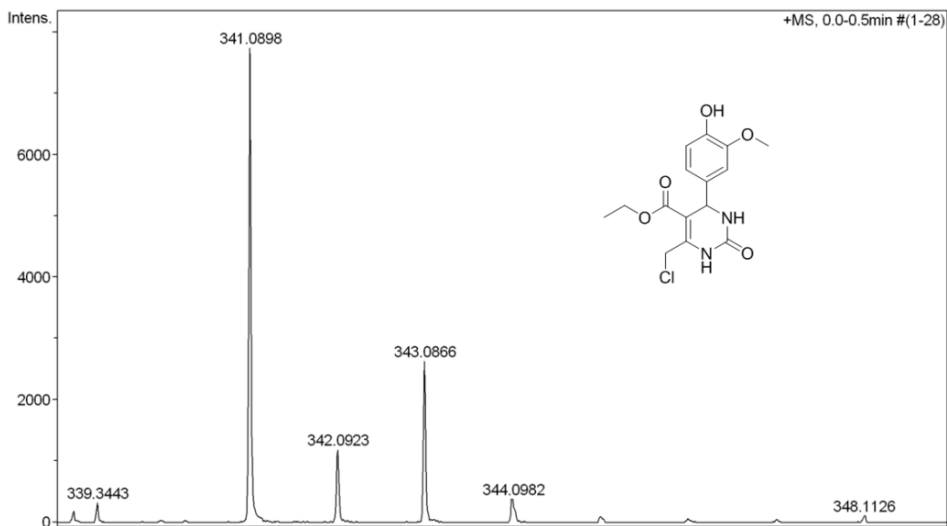


Espectro de RMN de carbono do composto **46e** em DMSO-d₆ a 50 MHz.





Espectro de RMN de carbono do composto **46f** em DMSO-d₆ a 50 MHz.



Espectro de massas de alta resolução do composto **46f** utilizando fonte de ionização APPI.

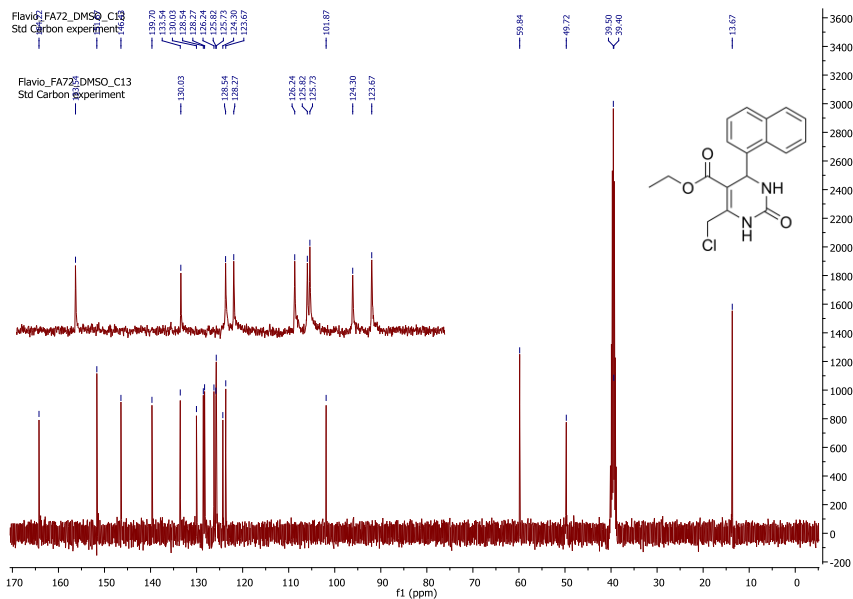
Chemical structure of compound 10: CCOC(=O)C(Cl)=C1NC(=O)NC2=CC=CC=C12

¹H NMR spectrum (CDCl₃) of compound 10. The x-axis represents the chemical shift in ppm, ranging from 0.0 to 10.0. The spectrum shows several peaks, with integration values indicated below the baseline. A list of chemical shifts (δ) in ppm is provided on the right side of the spectrum.

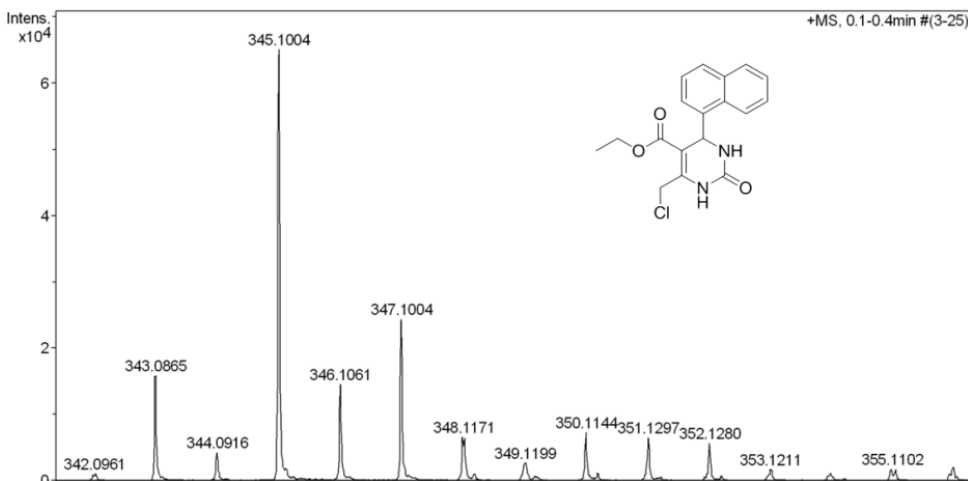
Chemical shifts (δ) in ppm: 9.50, 8.33, 8.30, 7.97, 7.94, 7.92, 7.89, 7.84, 7.60, 7.59, 7.57, 7.55, 7.49, 7.47, 6.12, 4.89, 4.85, 4.72, 3.92, 3.90, 3.86, 3.85, 3.81, 3.79, 2.50, 0.85, 0.82, 0.78.

Integration values: 0.90, 0.93, 2.95, 4.32, 1.00, 0.96, 0.97, 2.00, 3.24.

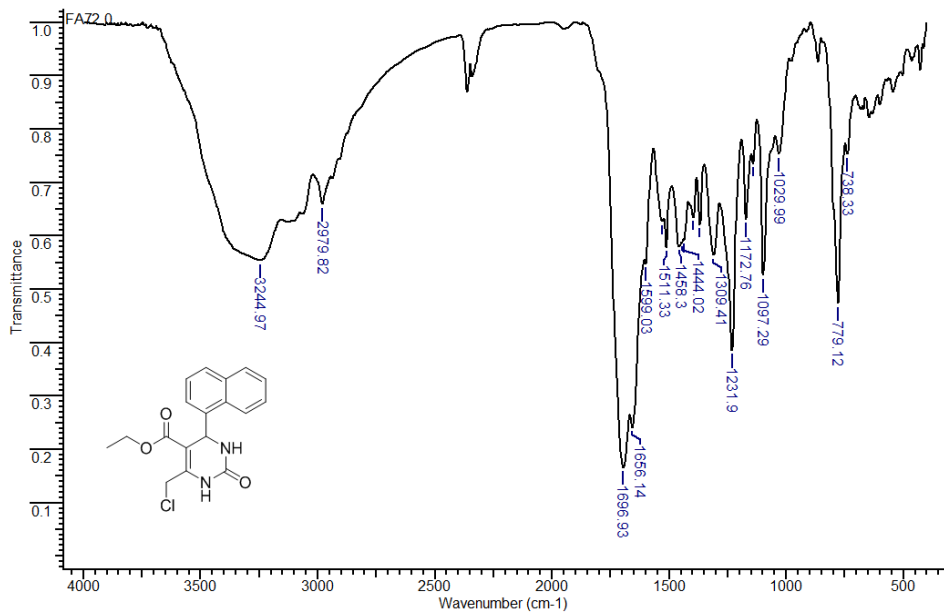
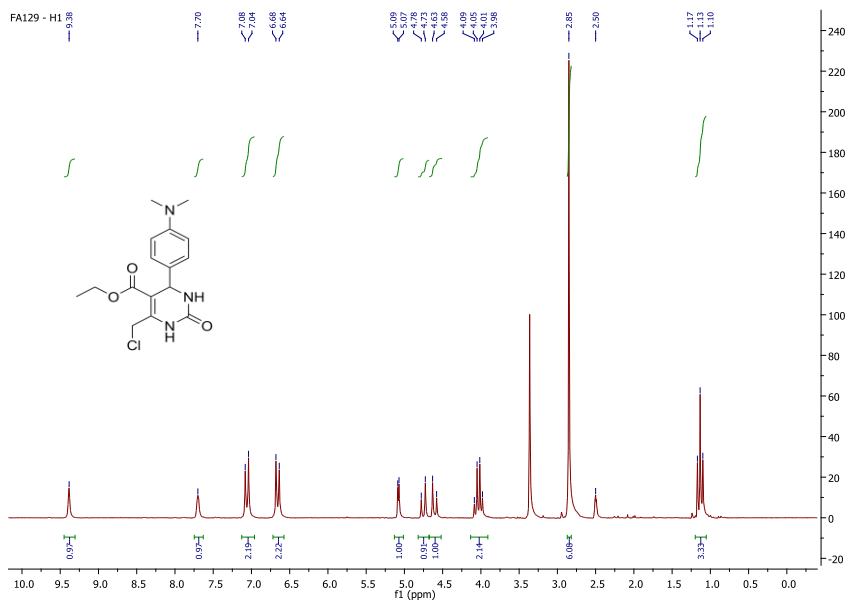
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **46g** em DMSO-d₆ a 200 MHz.

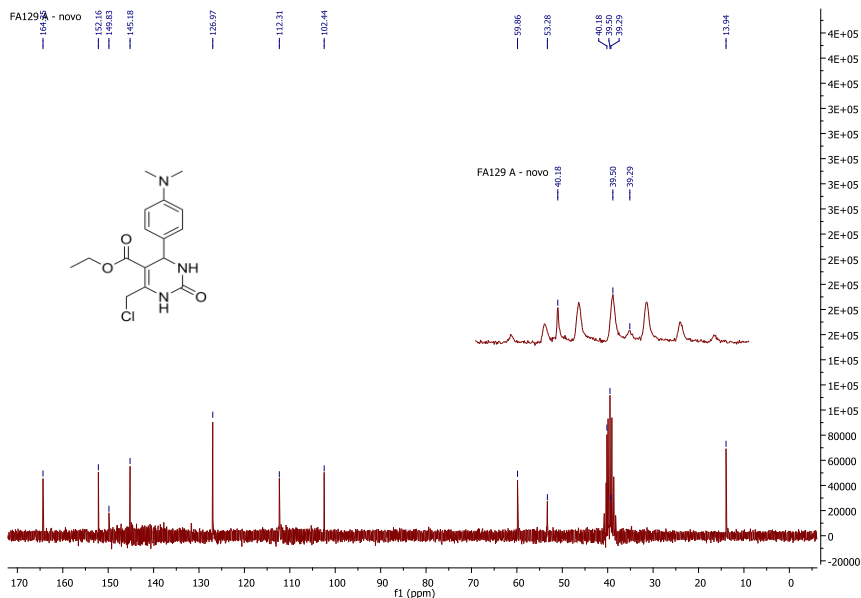


Espectro de RMN de carbono do composto **46g** em DMSO-d₆ a 50 MHz.

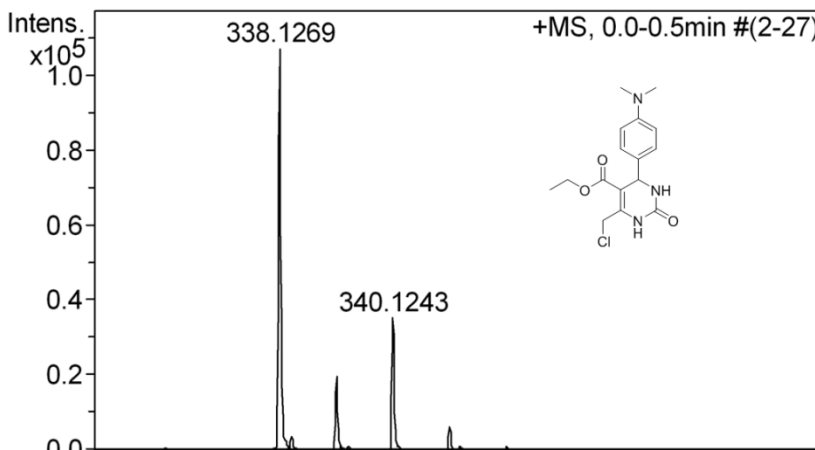


Espectro de massas de alta resolução do composto **46g** utilizando fonte de ionização APPI.

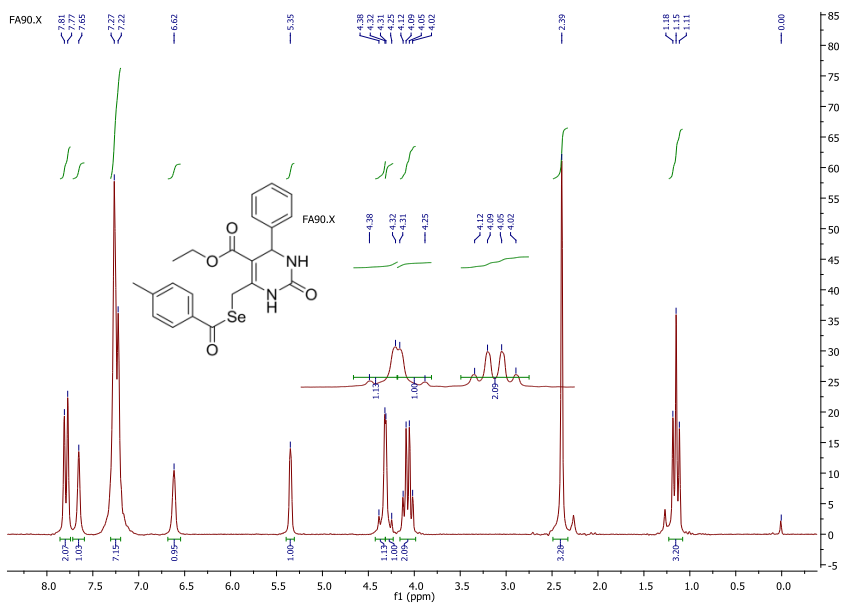
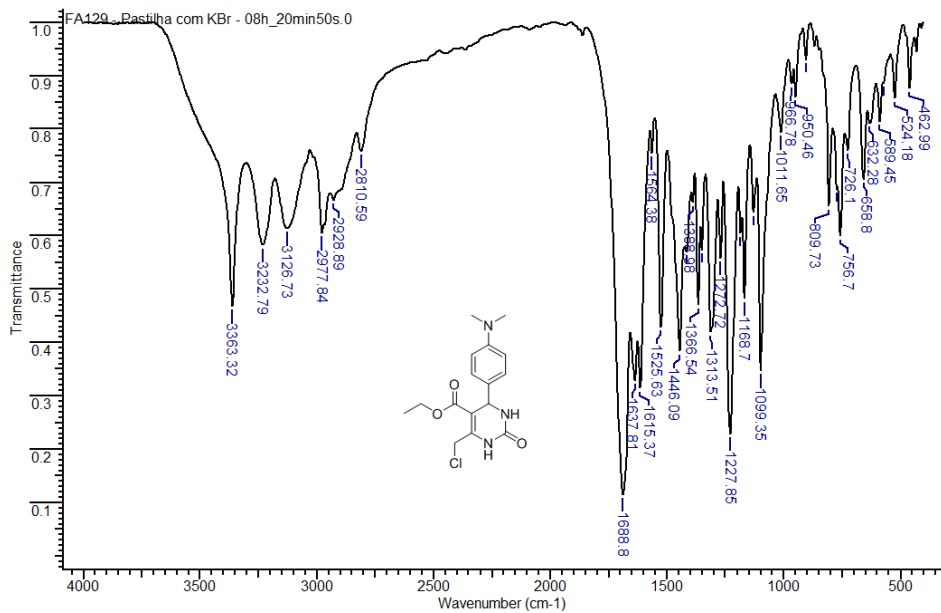
Espectro de IV do composto **46g** em pastilha de KBrEspectro de RMN de hidrogênio do composto **46h** em DMSO-d₆ a 200 MHz.

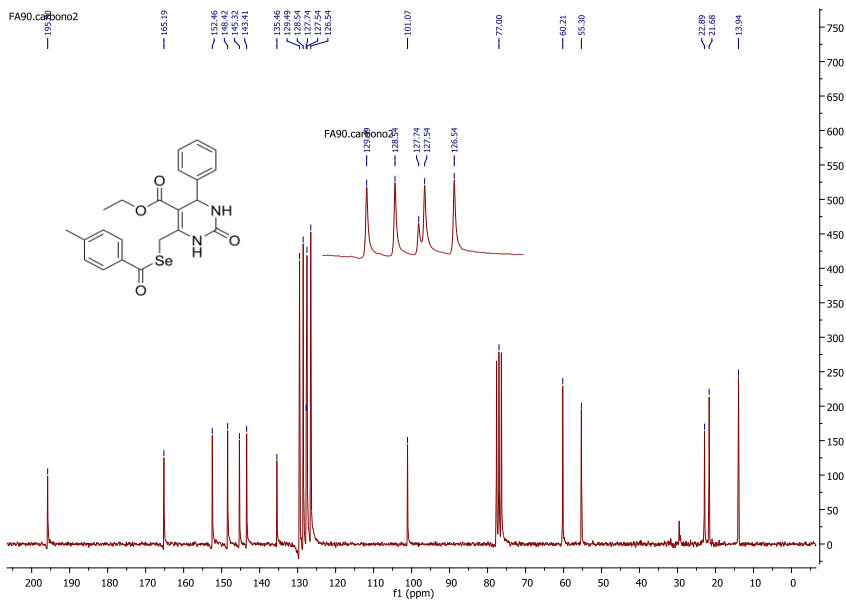


Espectro de RMN de carbono do composto **46h** em DMSO-d₆ a 50 MHz.

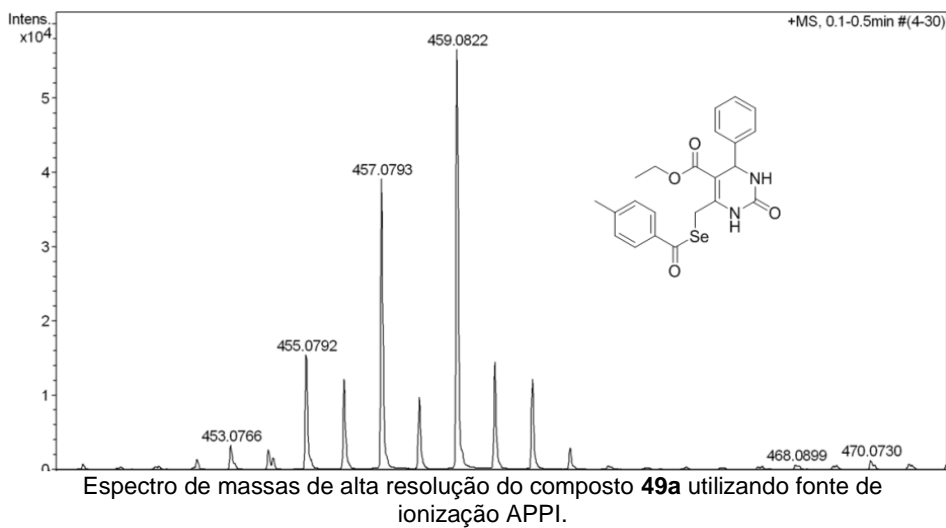


Espectro de massas de alta resolução do composto **46h** utilizando fonte de ionização APPI.

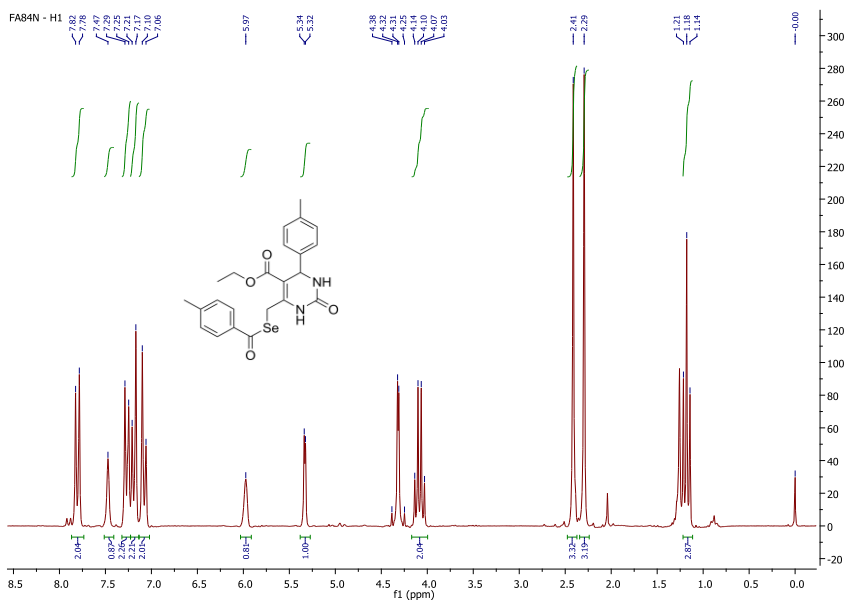
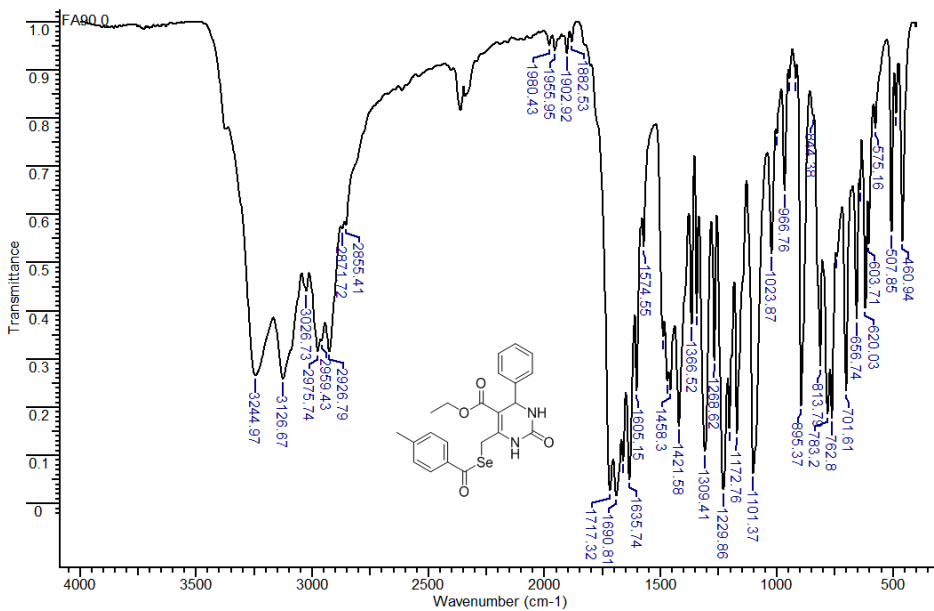


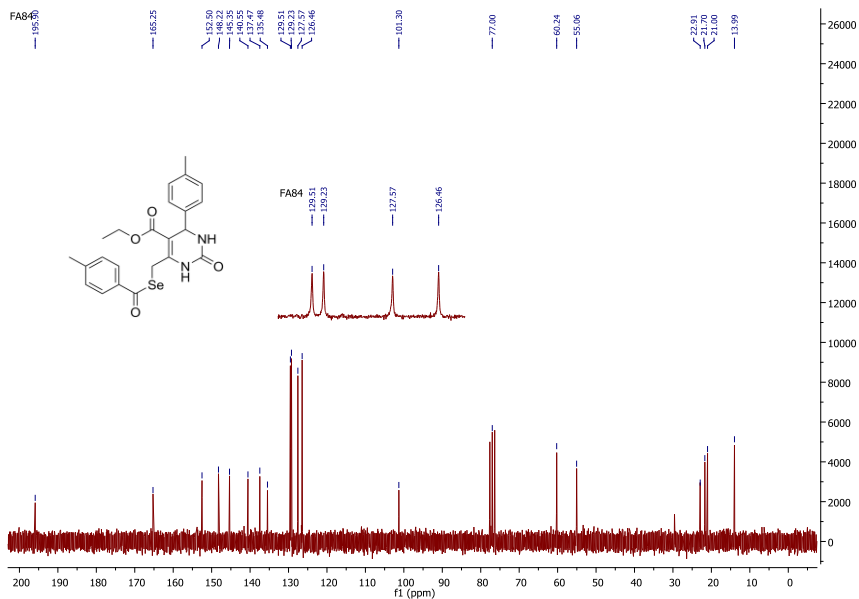


Espectro de RMN de carbono do composto **49a** em CDCl_3 a 50 MHz.

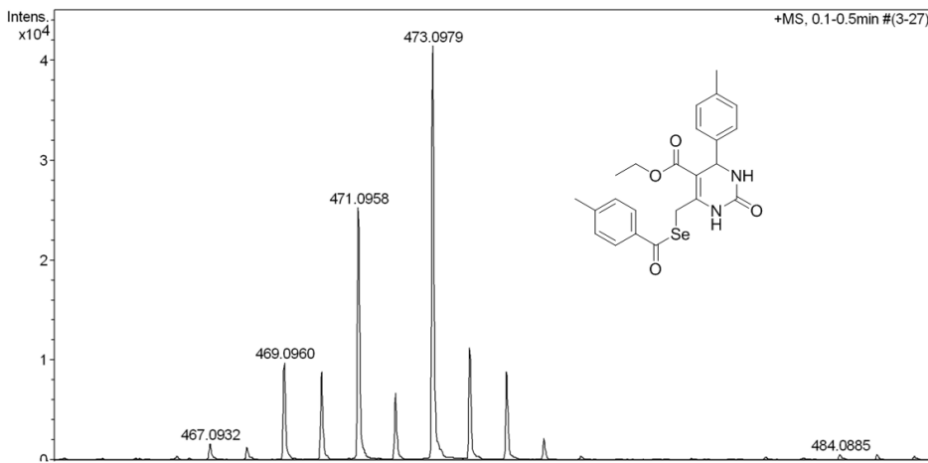


Espectro de massas de alta resolução do composto **49a** utilizando fonte de ionização APPI.

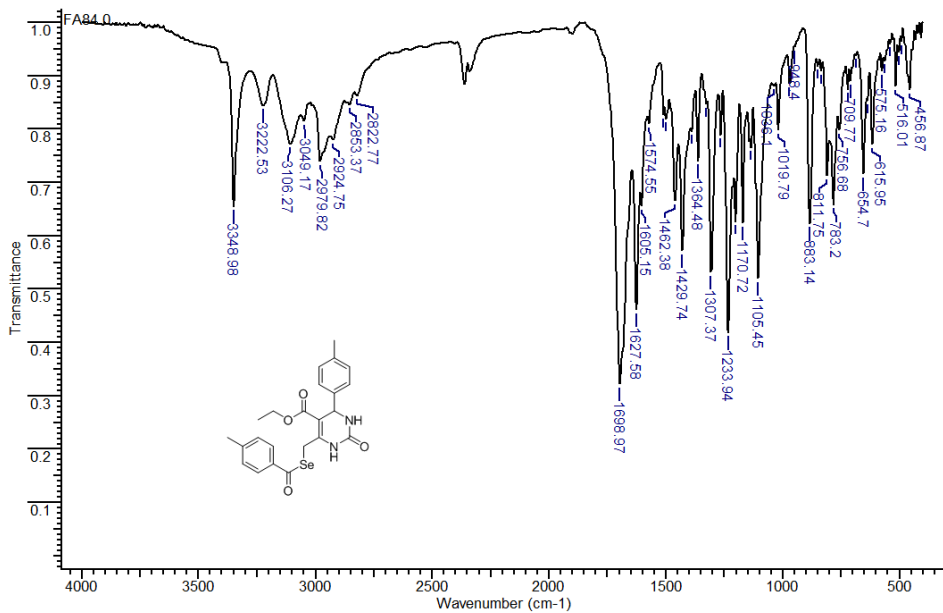
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49b** em CDCl₃ a 200 MHz.



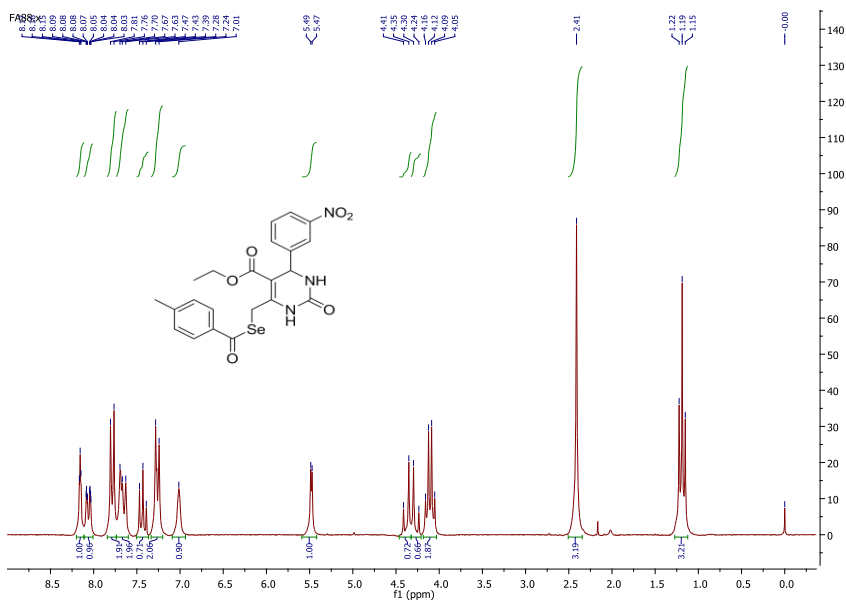
Espectro de RMN de carbono do composto **49b** em CDCl_3 a 50 MHz.



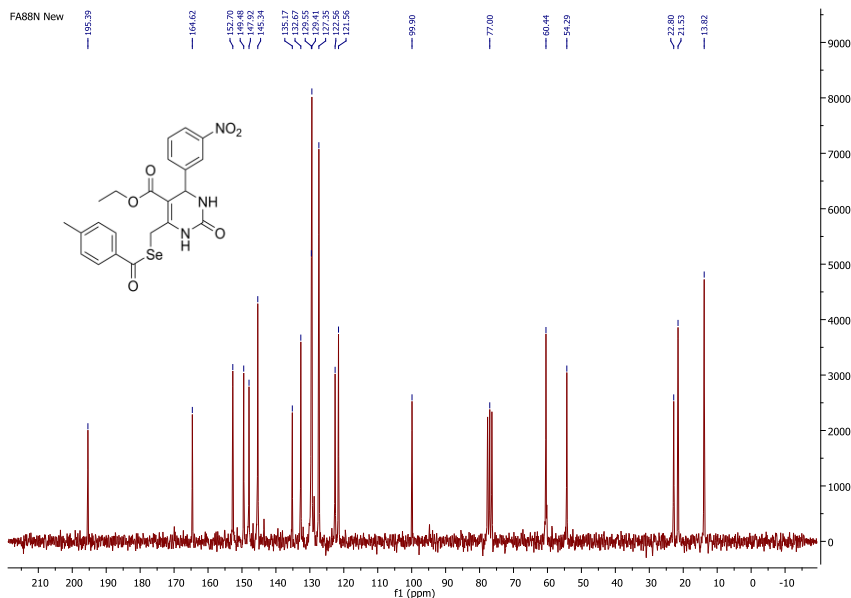
Espectro de massas de alta resolução do composto **49b** utilizando fonte de ionização APPI.



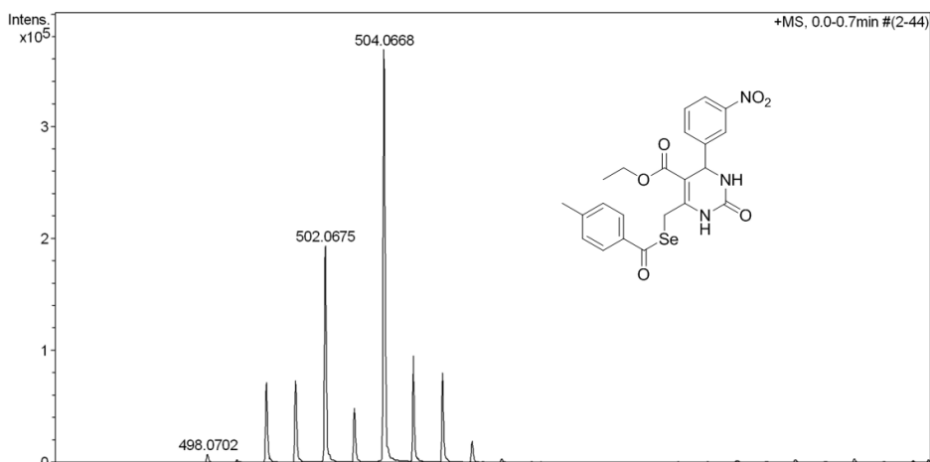
Espectro de IV do composto **49b** em pastilha de KBr.



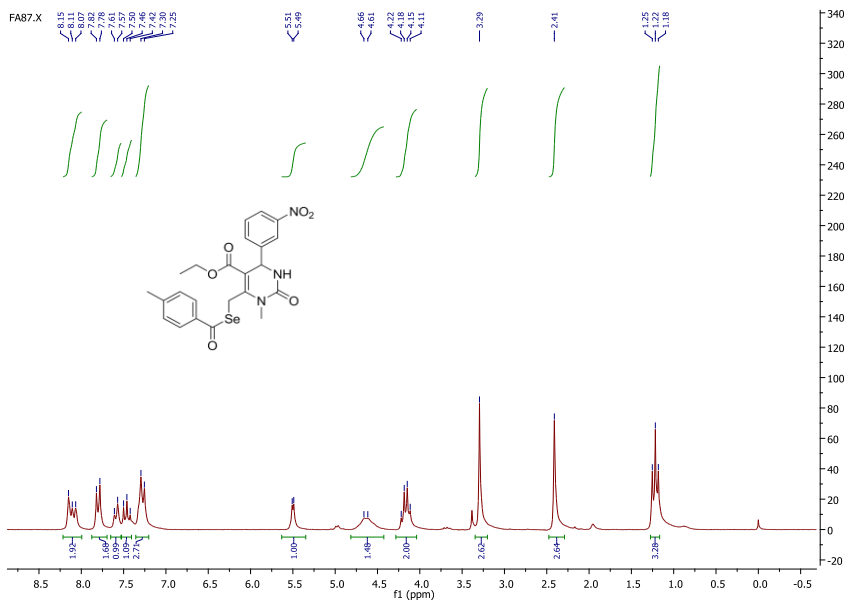
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49c** em CDCl₃a 200 MHz.

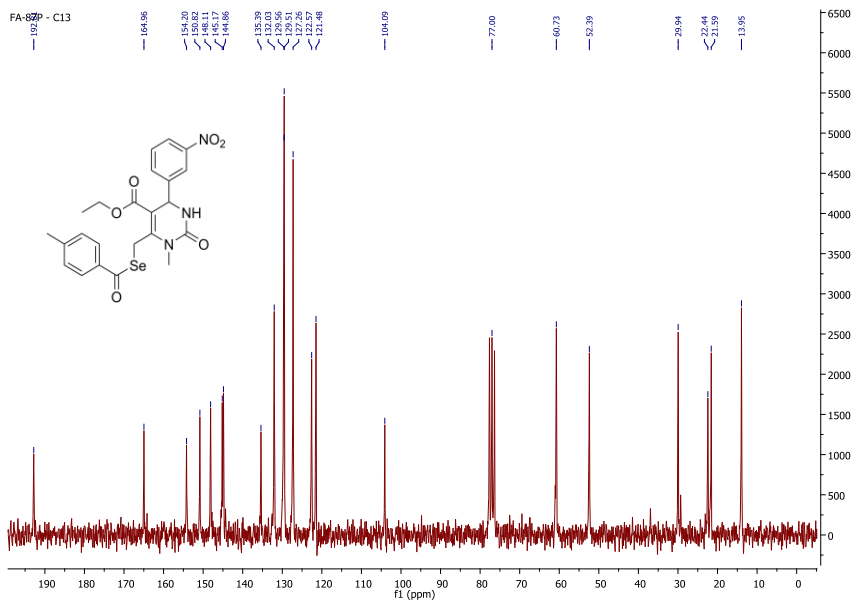


Espectro de RMN de carbono do composto **49c** em CDCl_3 a 50 MHz.

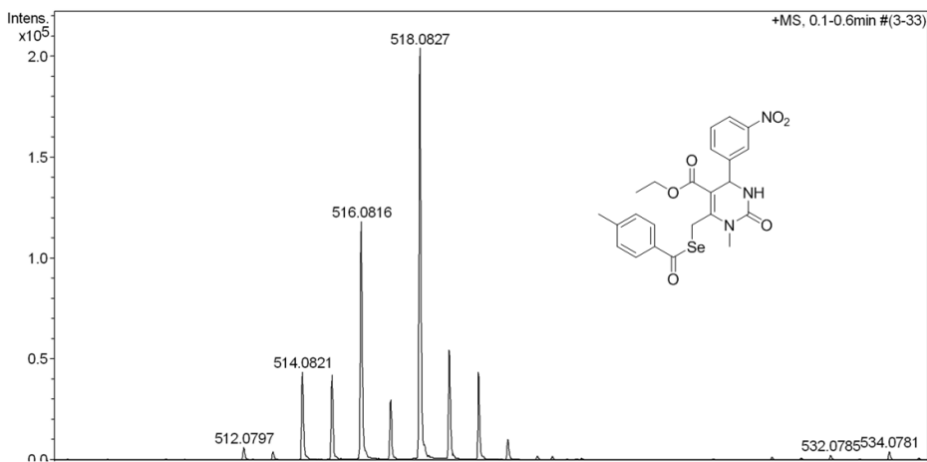


Espectro de massas de alta resolução do composto **49c** utilizando fonte de ionização APPI.





Espectro de RMN de carbono do composto **49d** em CDCl_3 a 50 MHz.



Espectro de massas de alta resolução do composto **49d** utilizando fonte de ionização APPI.

Chemical structure of compound 10 is shown above the spectrum. The structure is a substituted benzothiazine derivative. The spectrum shows peaks corresponding to the protons in the molecule. The integration values are provided below the baseline.

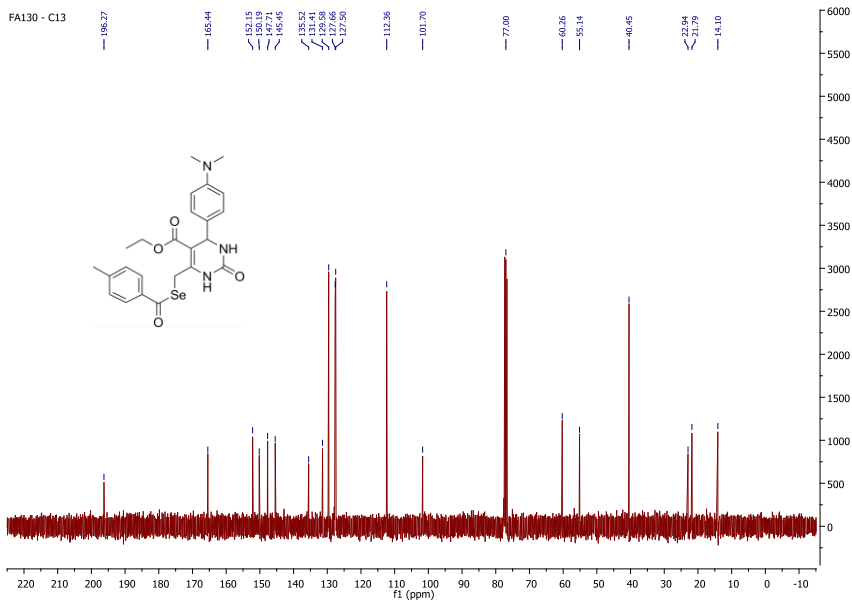
Integration values (from left to right):

- 1.95
- 0.91
- 1.83
- 2.10
- 0.88
- 1.00
- 0.96
- 0.79
- 1.94
- 6.30
- 3.01
- 3.08
- 0.00

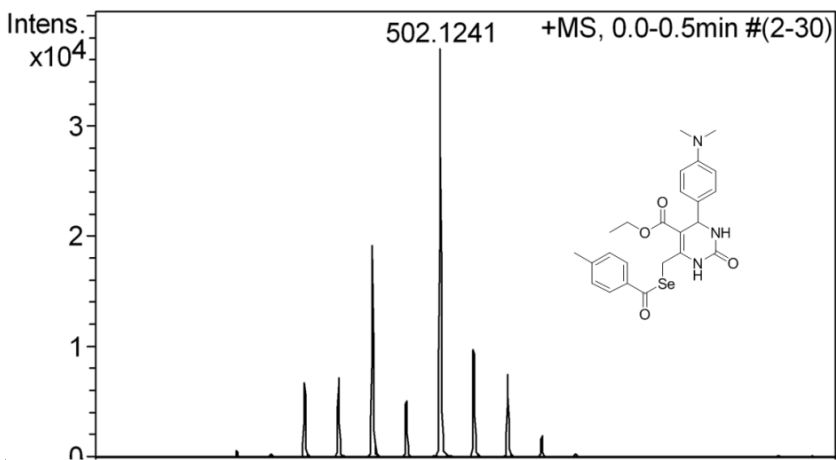
Chemical structure of compound 10:

CCOC(=O)C1=C(C(=N1)C(=O)N)C(=C(C2=CC=CC=C2)SeC3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4N(C)C

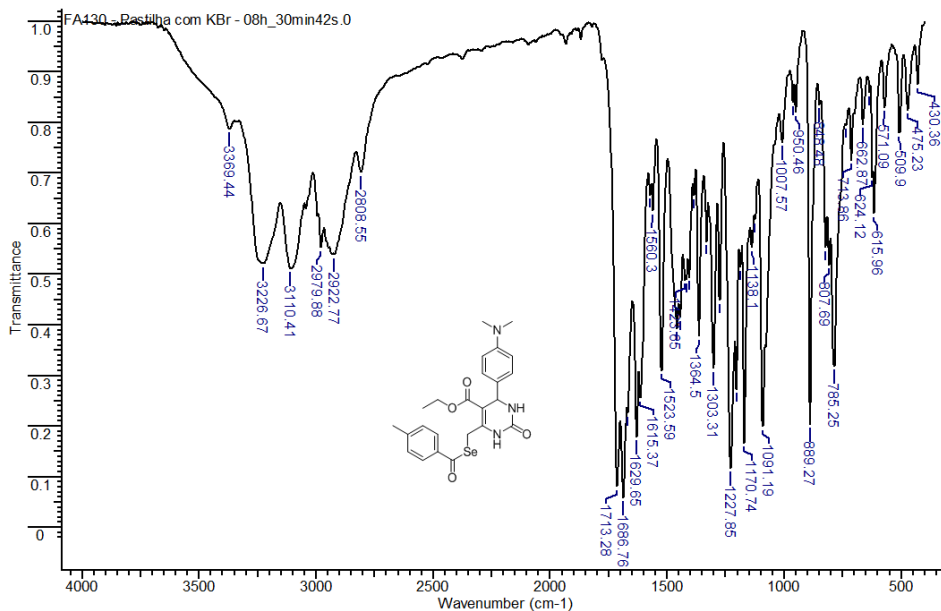
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49e** em CDCl₃ a 200 MHz.



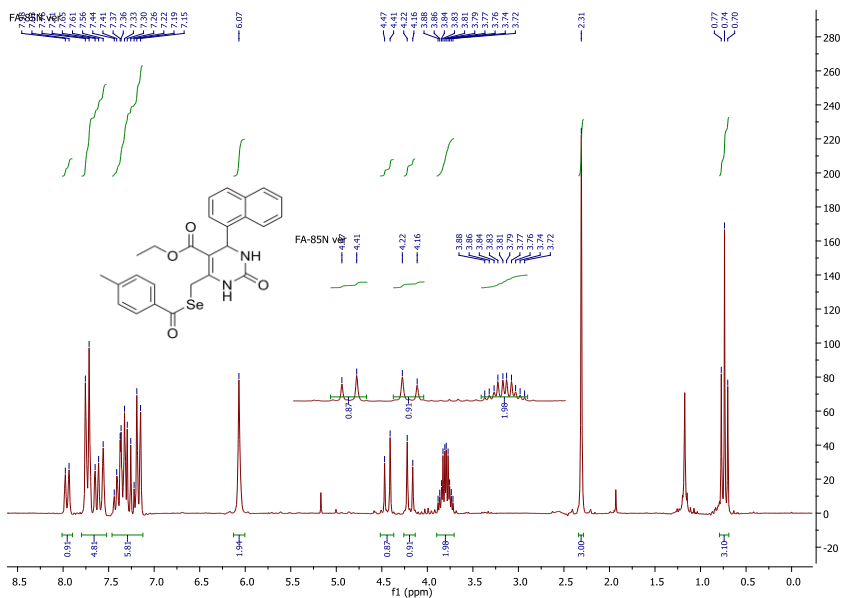
Espectro de RMN de carbono do composto **49e** em CDCl_3 a 50 MHz.



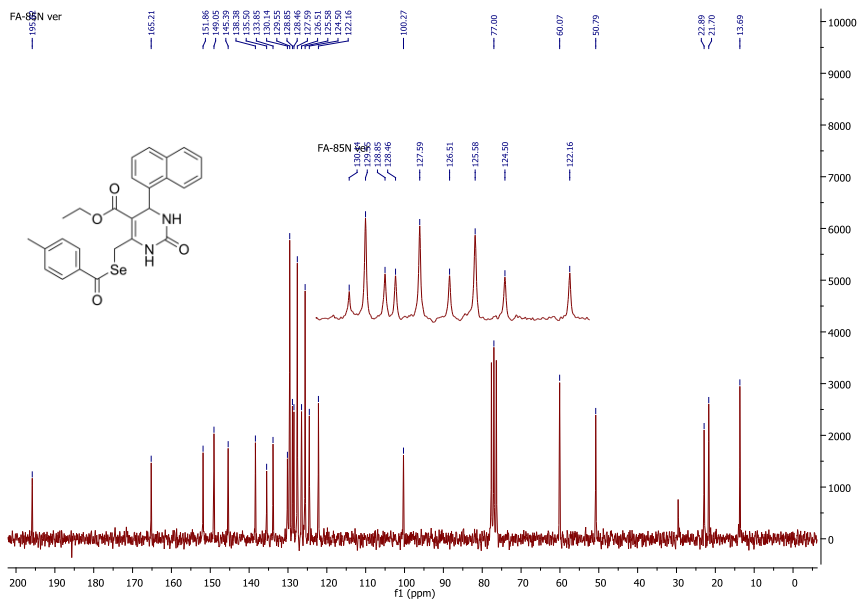
Espectro de massas de alta resolução do composto **49e** utilizando fonte de ionização APPI.



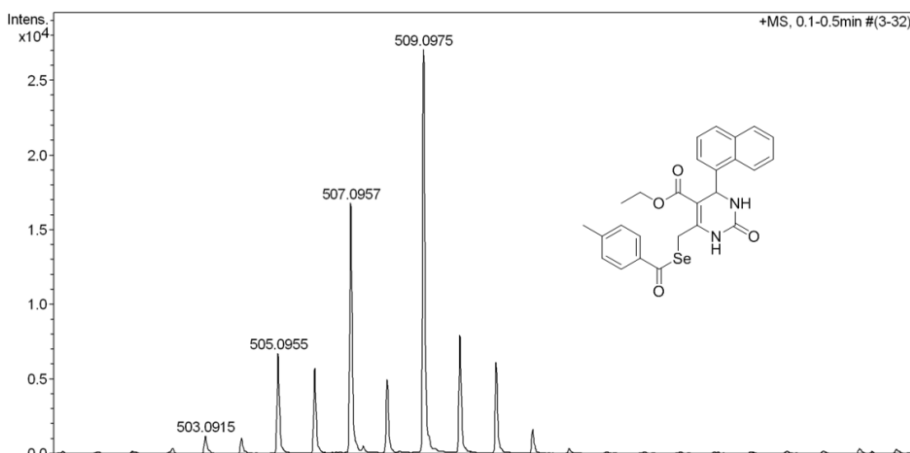
Espectro de IV do composto **49e** em pastilha de KBr.



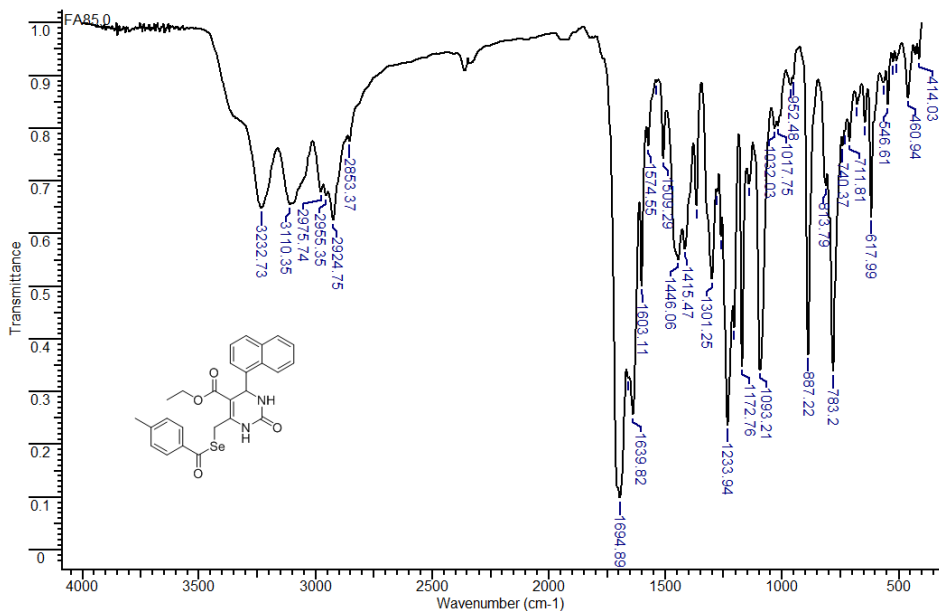
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49f** em CDCl₃ a 200 MHz.



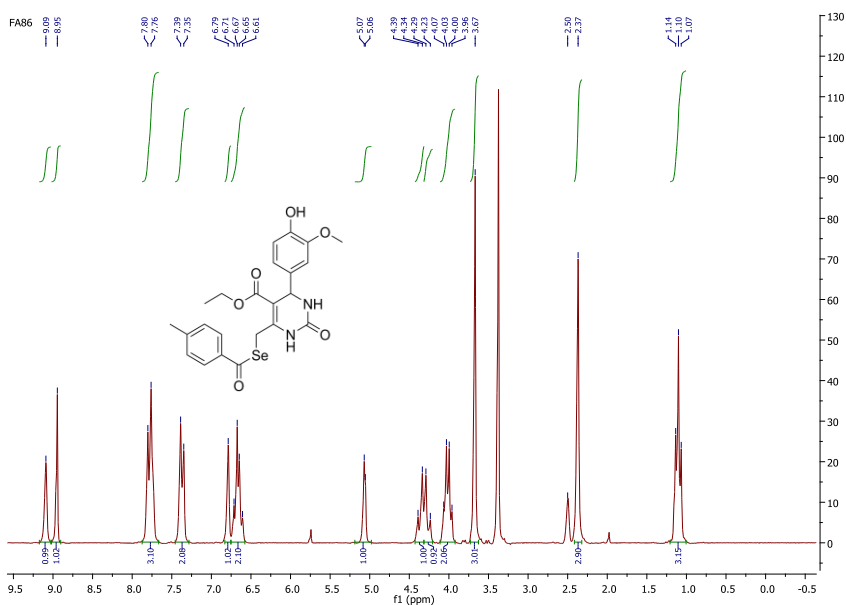
Espectro de RMN de carbono do composto **49f** em CDCl₃ a 50 MHz.



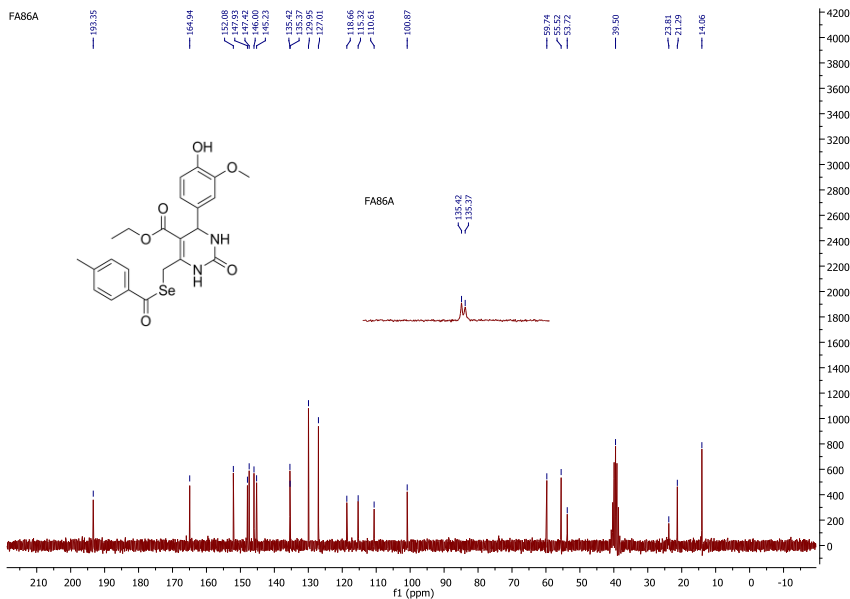
Espectro de massas de alta resolução do composto **49f** utilizando fonte de ionização APPI.



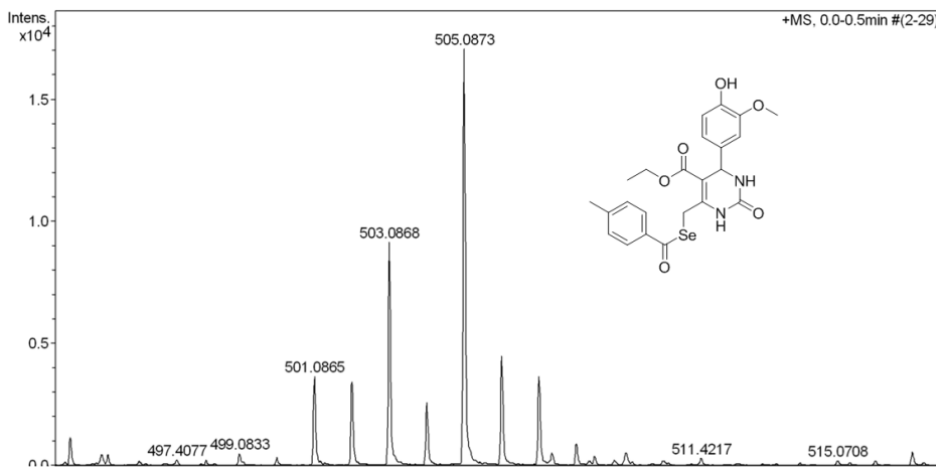
Espectro de IV do composto **49f** em pastilha de KBr.



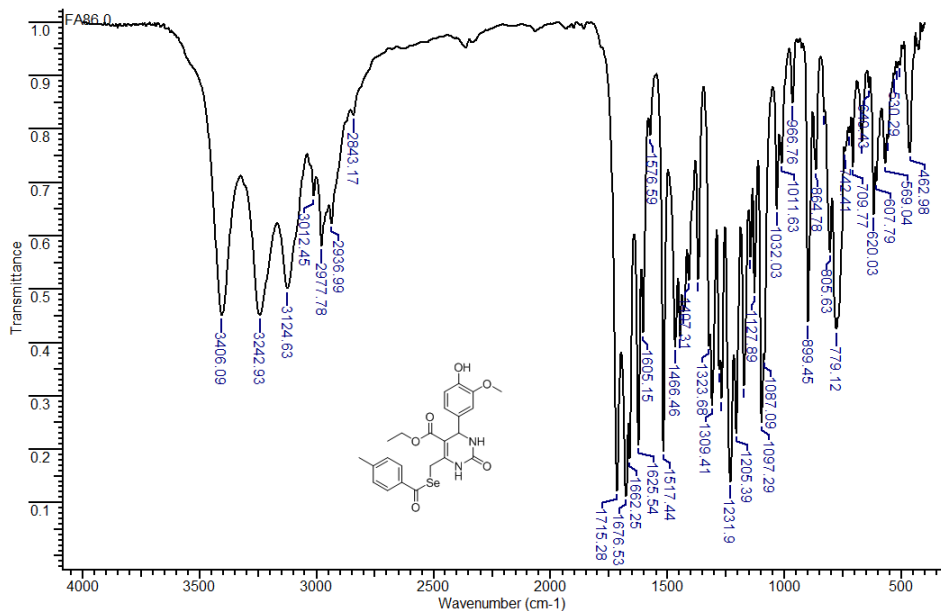
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49g** em DMSO-d₆ a 200 MHz.



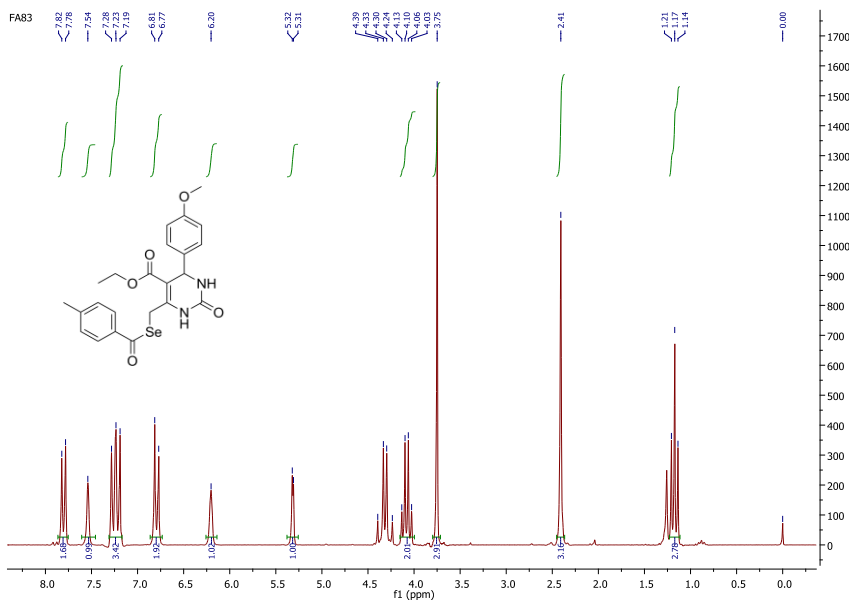
Espectro de RMN de carbono do composto **49g** em DMSO-d₆ a 50 MHz.



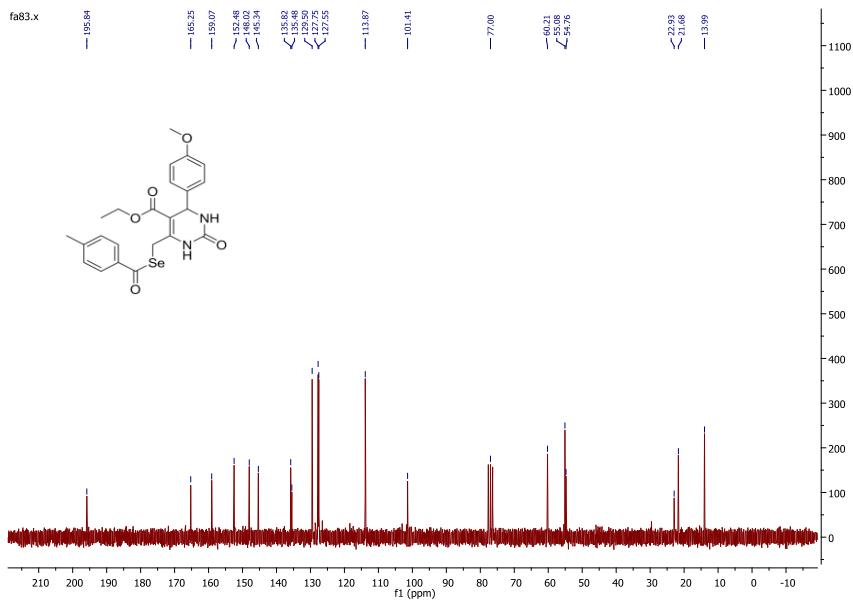
Espectro de massas de alta resolução do composto **49g** utilizando fonte de ionização APPI.



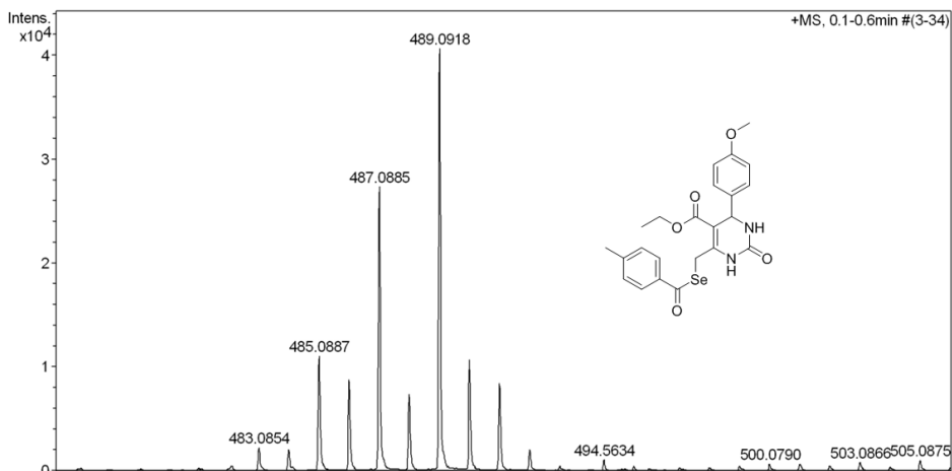
Espectro de IV do composto **49g** em pastilha de KBr.



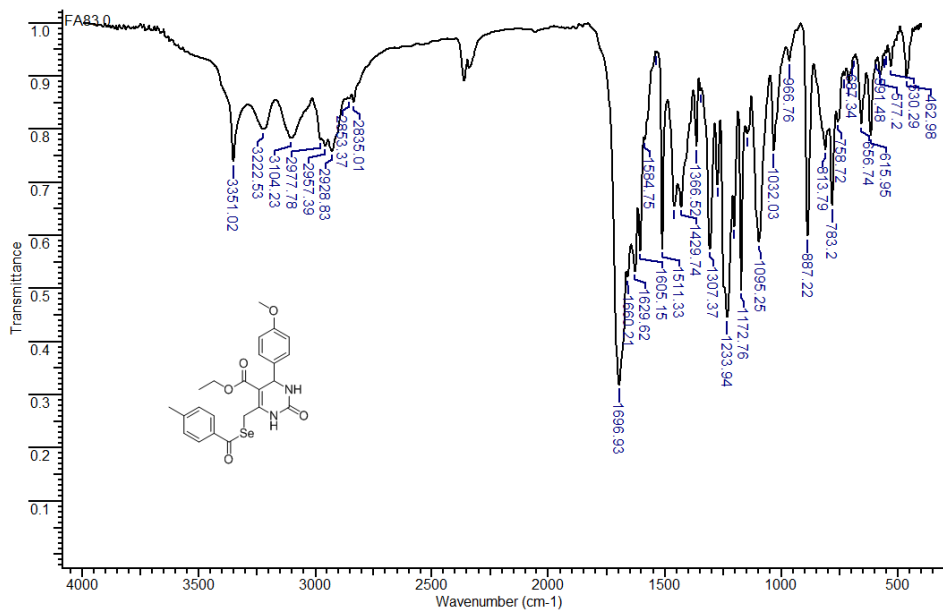
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49h** em CDCl₃ a 200 MHz.



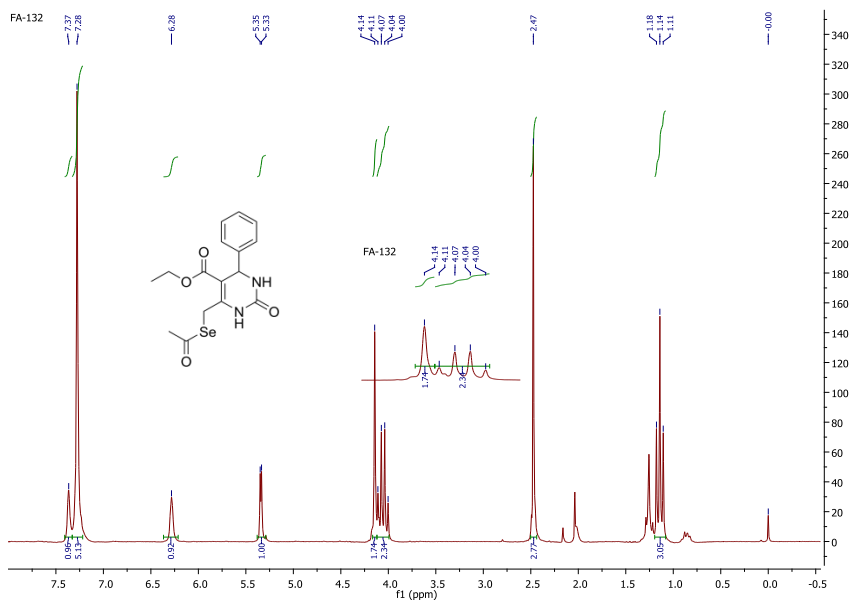
Espectro de RMN de carbono do composto **49h** em CDCl_3 a 50 MHz.



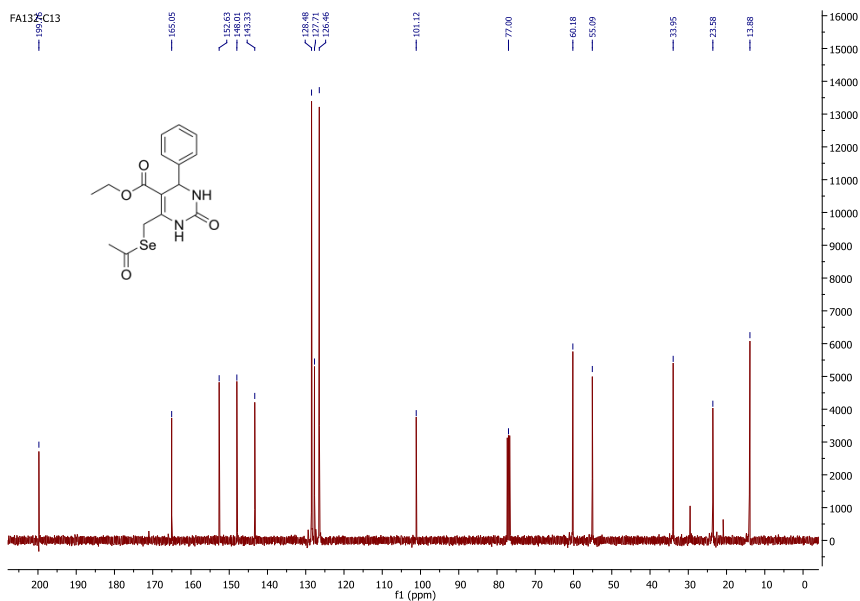
Espectro de massas de alta resolução do composto **49h** utilizando fonte de ionização APPI.



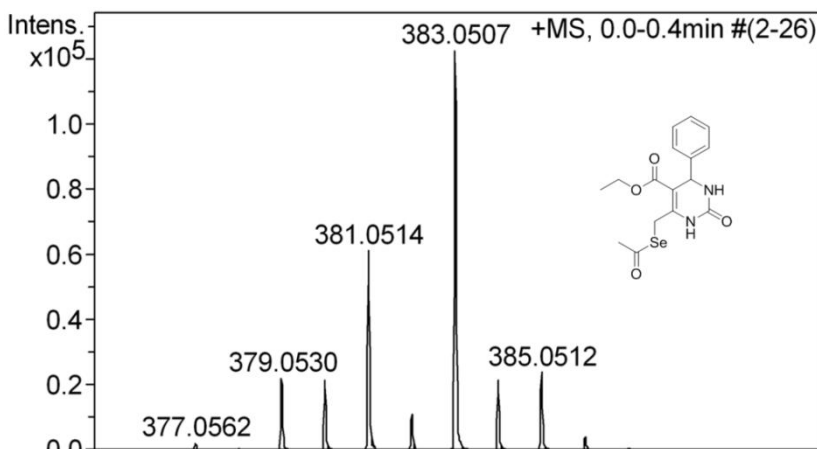
Espectro de IV do composto **49h** em pastilha de KBr.



Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49i** em CDCl₃ a 200 MHz.



Espectro de RMN de carbono do composto **49i** em CDCl_3 a 50 MHz.



Espectro de massas de alta resolução do composto **49i** utilizando fonte de ionização APPI.

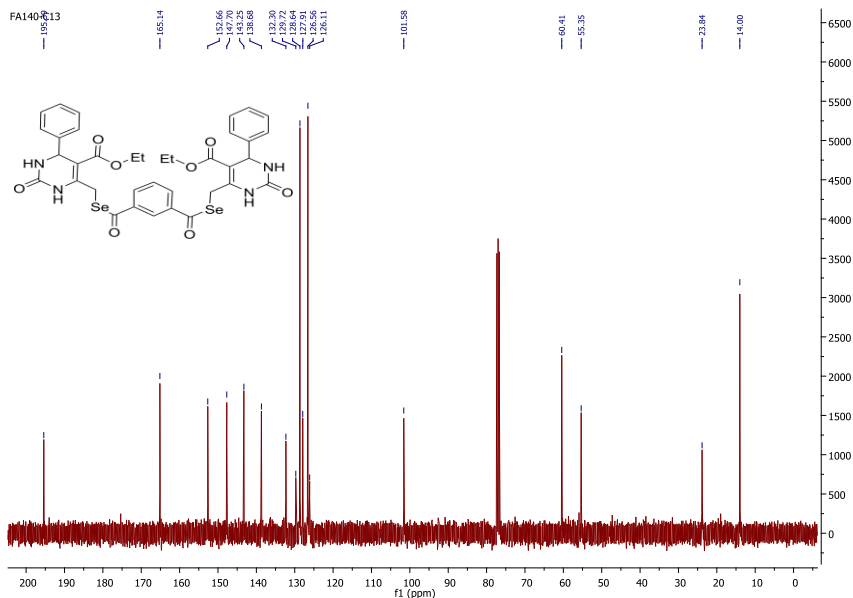
Chemical structure of compound 10 is shown above the spectrum. The structure is a symmetrical molecule with two 2-phenyl-2H-1,3-benzodiazepin-5-ylidene groups connected by a central 1,3-phenylene group via selenium atoms. The structure is labeled with 'Et' for the ethyl ester groups.

¹H NMR spectrum (CDCl₃) of compound 10. The x-axis represents the chemical shift in ppm, ranging from -0.5 to 10.0. The y-axis represents the intensity. The spectrum shows several peaks corresponding to the protons in the molecule. The peaks are labeled with their chemical shifts and integration values.

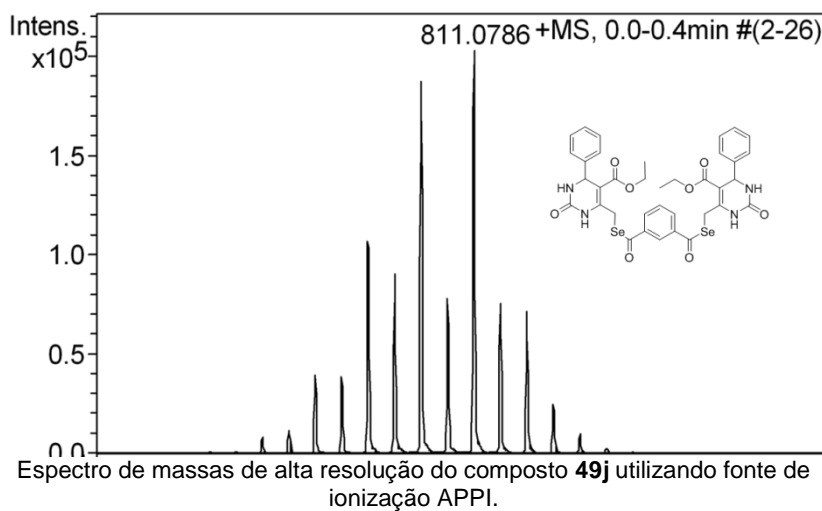
Chemical shifts (ppm): 8.55, 8.09, 7.85, 7.62, 7.54, 7.25, 6.55, 5.40, 5.39, 4.38, 4.16, 4.09, 4.06, 1.22, 1.18, 1.14.

Integration values: 0.39, 0.82, 0.73, 0.36, 5.55, 0.91, 1.05, 1.79, 1.98, 3.02.

Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49j** em CDCl₃ a 200 MHz.



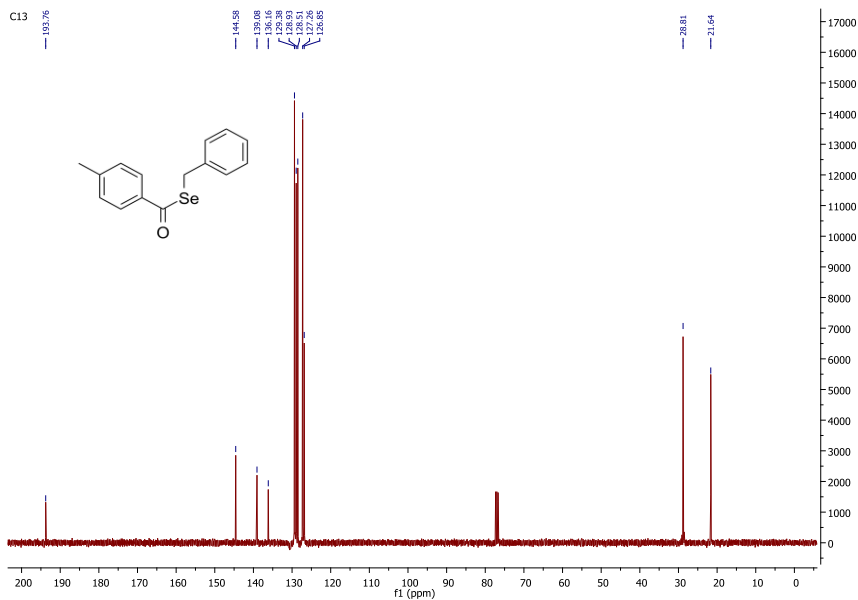
Espectro de RMN de carbono do composto **49j** em CDCl_3 a 50 MHz.



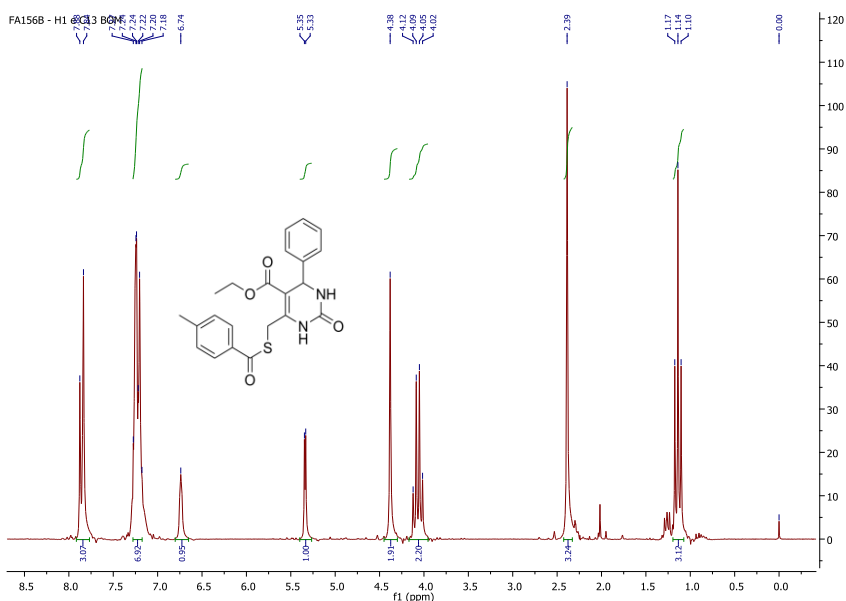
Espectro de massas de alta resolução do composto **49j** utilizando fonte de ionização APPI.

¹H NMR spectrum (CDCl₃) of 4-methylbenzyl phenyl selenide. The spectrum shows peaks at 7.77, 7.36, 7.28, 7.27, 7.24, 7.19, 4.31, and 2.35 ppm. Integration values are 1.01, 1.95, 1.96, 2.72, 2.00, and 3.02. The chemical structure is shown as an inset.

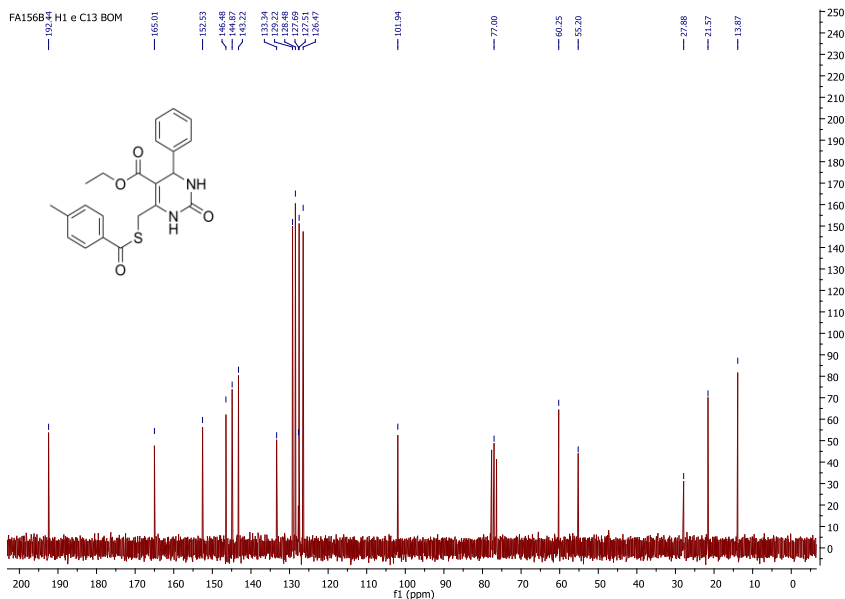
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **49k** em CDCl₃ a 400 MHz.



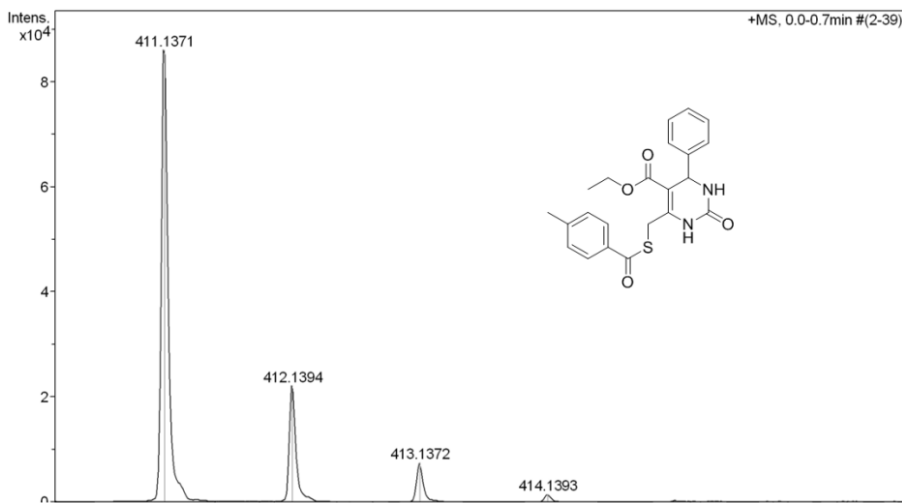
Espectro de RMN de carbono do composto **49k** em CDCl₃ a 50 MHz.



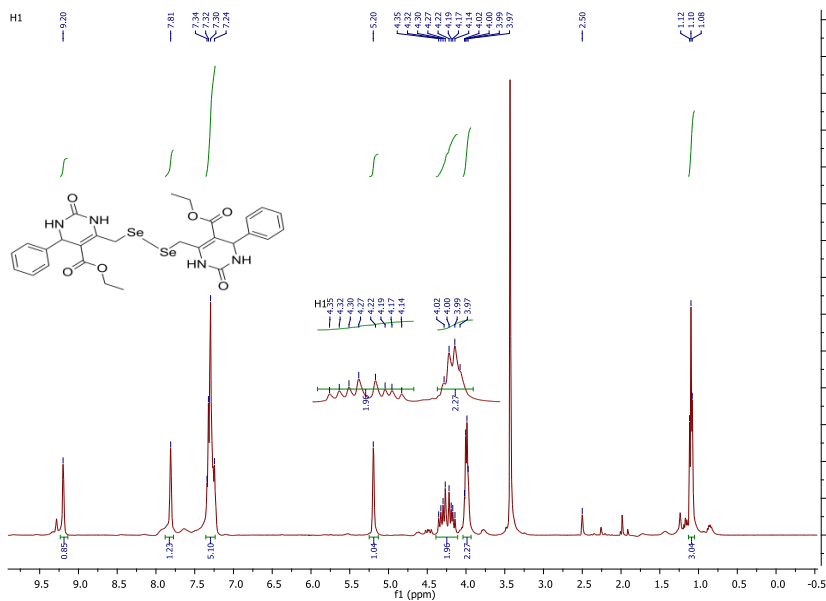
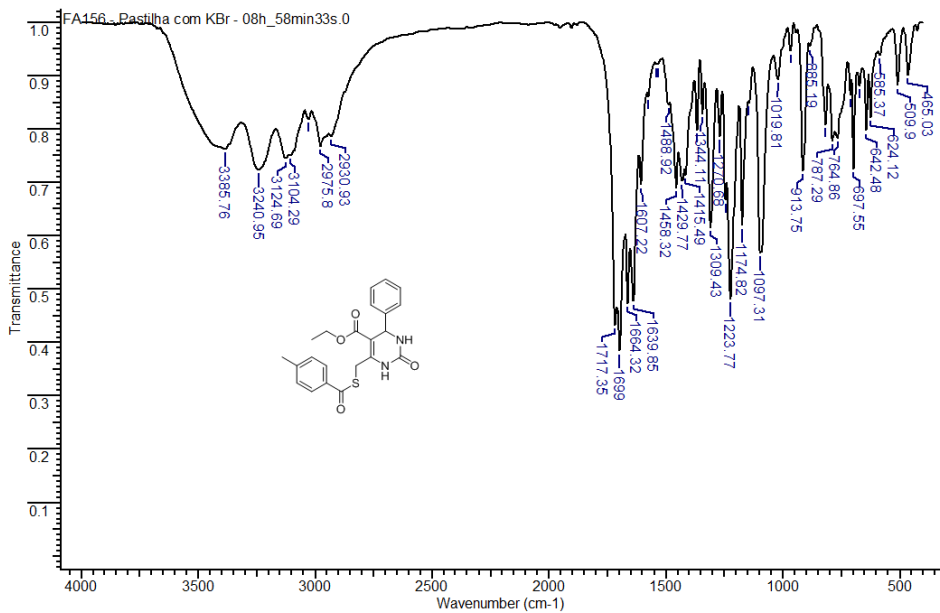
Espectro de RMN de hidrogênio do composto **52** em CDCl₃ a 200 MHz.

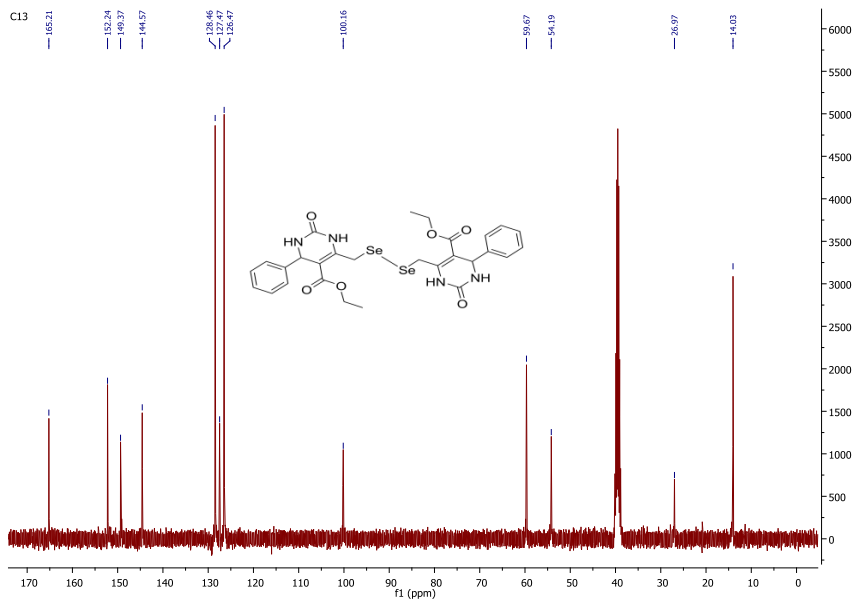


Espectro de RMN de carbono do composto **52** em CDCl_3 a 50 MHz.

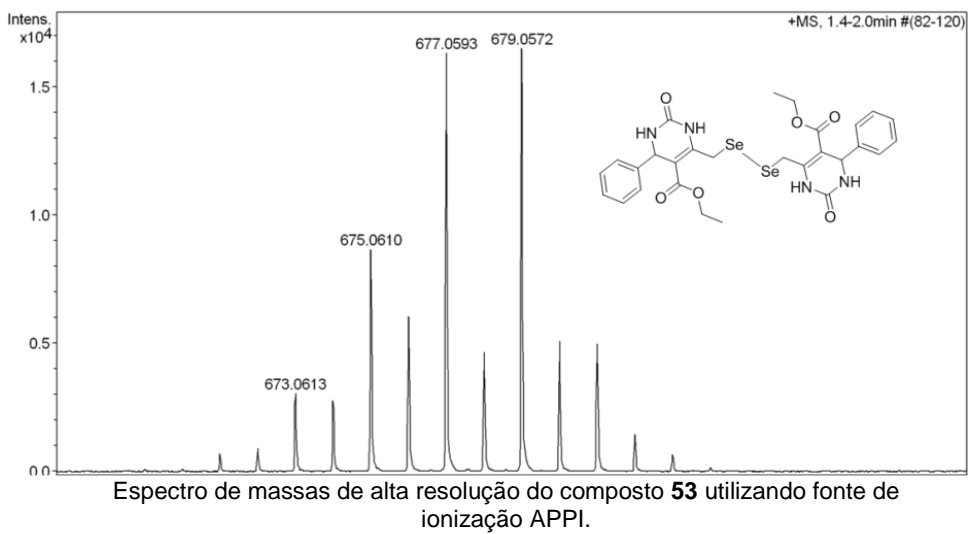


Espectro de massas de alta resolução do composto **52** utilizando fonte de ionização APPI.

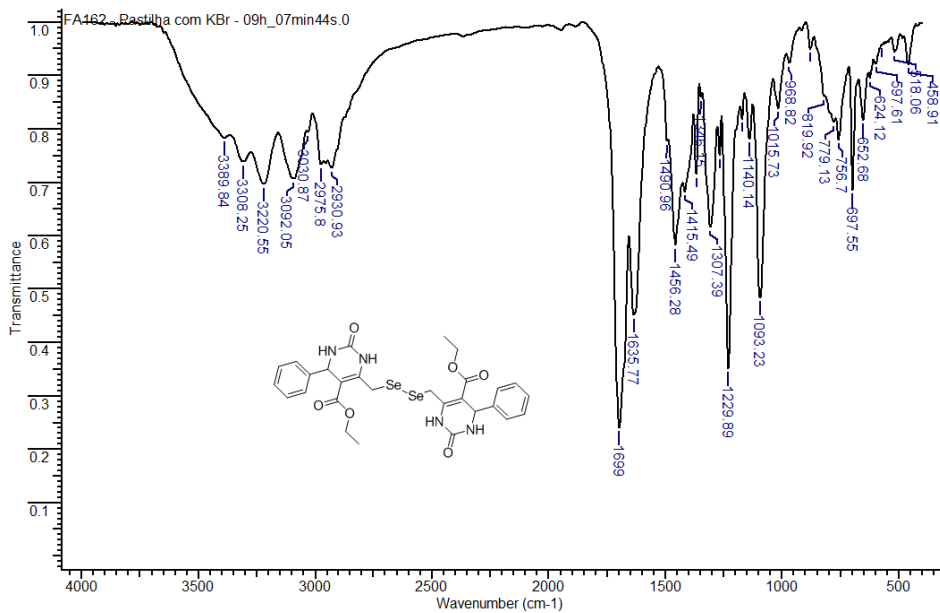
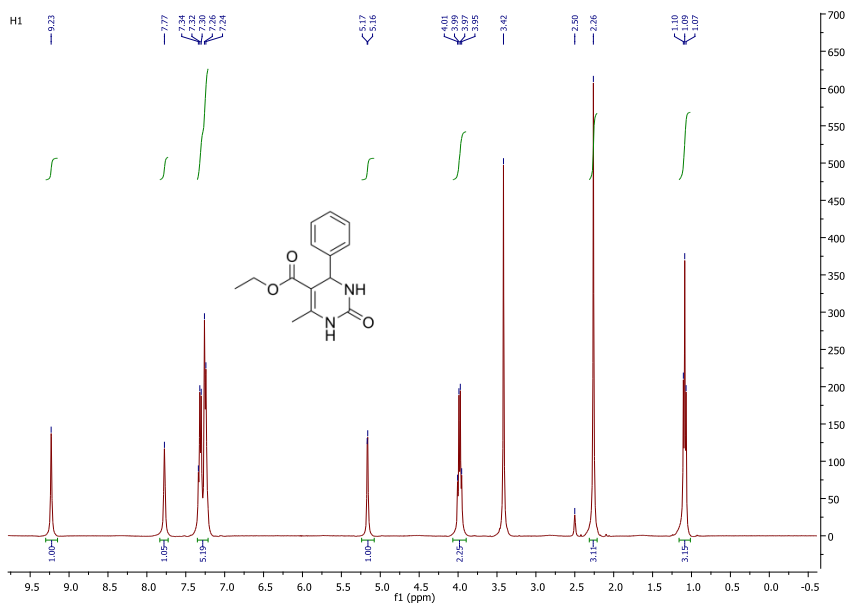


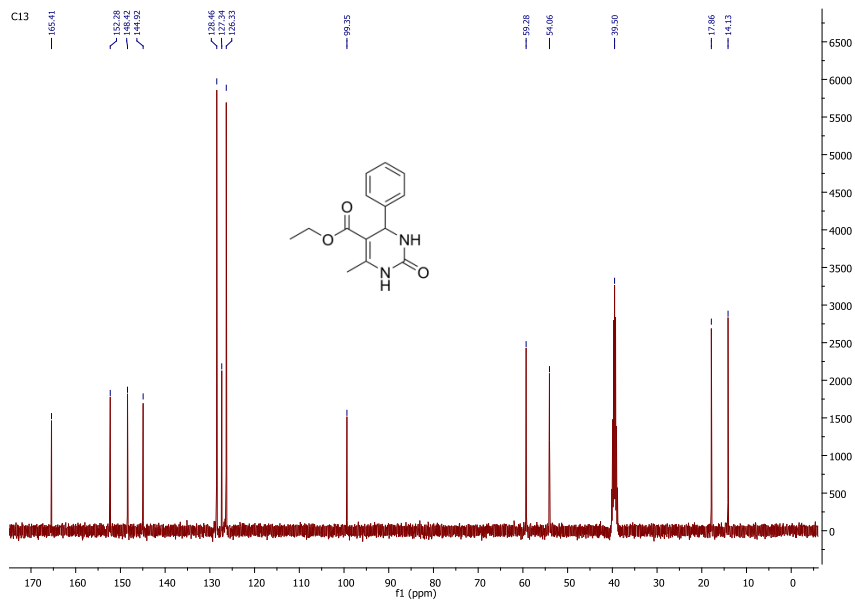


Espectro de RMN de carbono do composto **53** em DMSO-d₆ a 100 MHz.

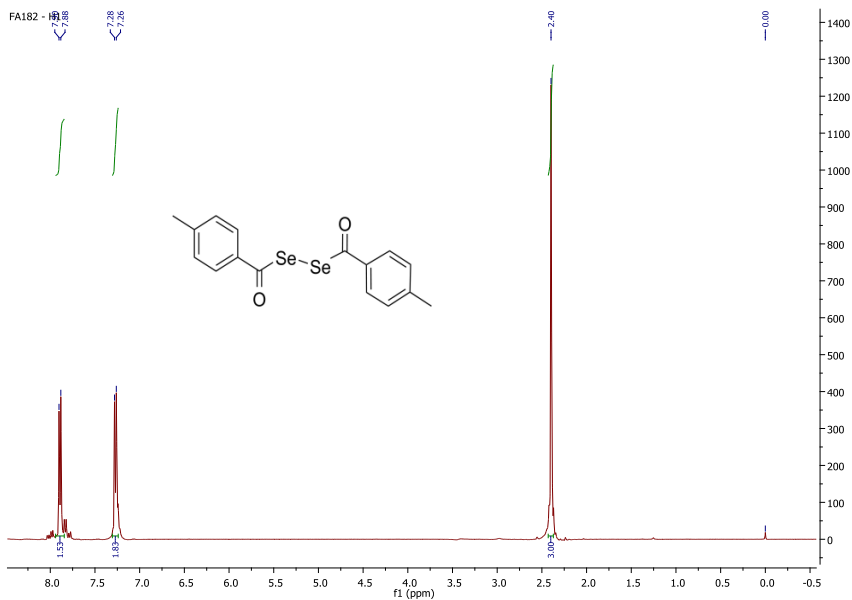


Espectro de massas de alta resolução do composto **53** utilizando fonte de ionização APPI.

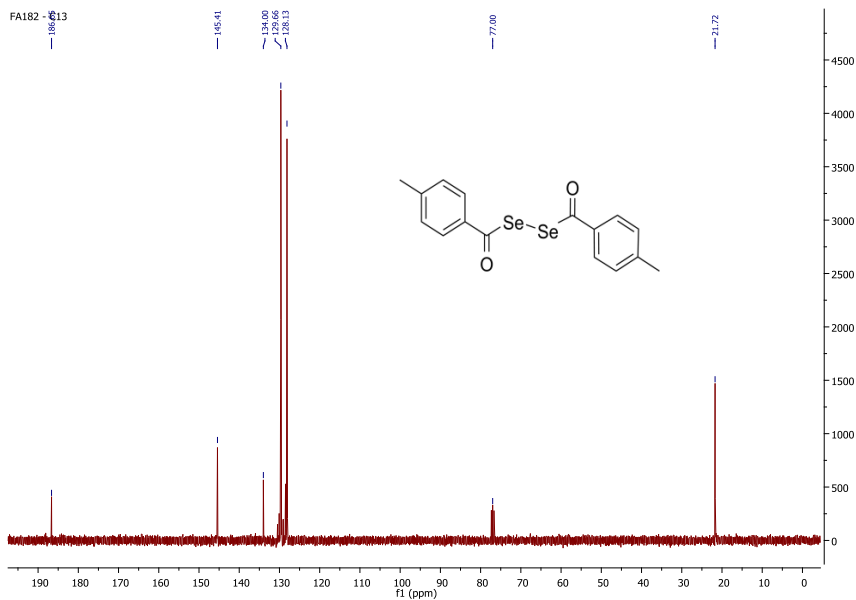
Espectro de IV do composto **53** em pastilha de KBr.Espectro de RMN de hidrogênio do composto **54** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



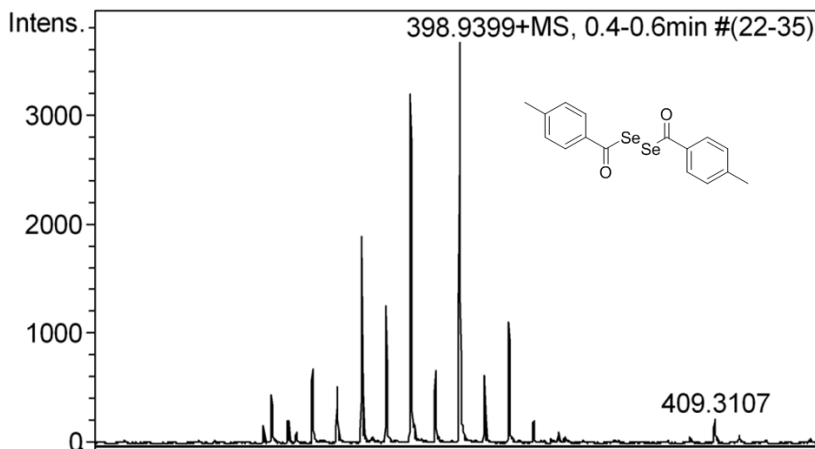
Espectro de RMN de carbono do composto **54** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



Espectro de RMN de hidrogênio do composto **56** em CDCl₃ a 400 MHz.



Espectro de RMN de carbono do composto **56** em CDCl_3 a 100 MHz.



Espectro de massas de alta resolução do composto **56** utilizando fonte de ionização APCI.

7. Referências bibliográficas

ABDO, M.; KNAPP, S. Biomimetic seleninates and selenonates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 29, p. 9234–5, jul. 2008.

AN, Y. et al. Main hypotheses, concepts and theories in the study of Alzheimer's disease. **Life Science Journal**, v. 5, p. 1–5, 2008.

ARUNKHAMKAEW, S. et al. Novel racemic tetrahydrocurcuminoid dihydropyrimidinone analogues as potent acetylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 10, p. 2880–2, 15 maio 2013.

ASSOCIATION, A. 2014 Alzheimer's Disease Facts and Figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 10, n. 2, 2014.

ATHAYDE-FILHO, P. F. DE et al. Synthesis and characterization of three new organo-selenium compounds . A convenient synthesis of aroylselenoglycolic acids. **ARKIVOC**, v. 2004, n. vi, p. 22–26, 2004.

AZEREDO, J. B. et al. Synthesis of thiol esters using nano CuO/Ionic liquid as an eco-friendly reductive system under microwave irradiation. **European Journal of Organic Chemistry**, p. 5188–5194, 2013.

BACK, T. G. Design and synthesis of some biologically interesting natural and unnatural products based on organosulfur and selenium chemistry. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 87, p. 1657–1674, 2009.

BHABAK, K. P.; MUGESH, G. Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants. **Accounts of chemical research**, v. 43, n. 11, p. 1408–19, nov. 2010.

BIESCHKE, J. et al. Oxidative metabolites accelerate Alzheimer's amyloidogenesis by a two-step mechanism, eliminating the requirement for nucleation. **Biochemistry**, v. 44, n. 13, p. 4977–4983, 2005.

BIGINELLI, P. **Gazz. Chim. Ital.** 1893, 23, 360

BRAGA, A. L. et al. Synthesis of chalcogenol esters from chalcogenoacetylenes. **Tetrahedron**, v. 57, n. 16, p. 3297–3300, abr. 2001.

BRAUGHLER, J. M.; DUNCAN, L. A; CHASE, R. L. The Involvement of Iron in Lipid Peroxidation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 22, p. 10282–10289, 1986.

BUSH, A. I.; TANZI, R. E. Therapeutics for Alzheimer ' s Disease Based on the Metal Hypothesis. **Neurotherapeutics**, v. 5, n. July, p. 421–432, 2008.

CANTO, R. F. S. **Planejamento e síntese de seleno-Diidropirimidinonas e avaliação como agentes multi-alvo para o tratamento da doença de Alzheimer.** [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

CANTO, R. F. S. et al. Design, synthesis and evaluation of seleno-dihydropyrimidinones as potential multi-targeted therapeutics for Alzheimer's disease. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 12, n. 21, p. 3470–7, jun. 2014.

CANTO, R. F. S.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A.; M.O.; RUSSOWSKY, D.; EIFLER-LIMA, V. L. Synthesis of Dihydropyrimidin-2-one/thione Library and Cytotoxic Activity against the Human U138-MG and Rat C6 Glioma Cell Lines. **Journal of the Brazillian Chemical Society**, v. 22, n. 7, p. 1379–1388, 2011.

CAPPERUCCI, A.; DEGL'INNOCENTI, A.; TIBERI, C. Organoselenosilane-Mediated Selective Mild Access to

Selenolesters, Selenoanhydrides and Diacyl Diselenides. **Synlett**, v. 2011, n. 15, p. 2248–2252, ago. 2011.

CHERNY, R. A. et al. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits β -amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. **Neuron**, v. 30, p. 665–676, 2001.

CHOWDHURY, S.; ROY, S. Cobalt assisted cleavage of S-S bonds and a base-free synthesis of mercapturic acids. **Tetrahedron Letters**, v. 38, n. 12, p. 2149–2152, 1997.

DA SILVA, D. L. et al. Free radical scavenging and antiproliferative properties of Biginelli adducts. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 2645–2650, 2012.

DOMÍNGUEZ-ÁLVAREZ, E. et al. Synthesis and antiproliferative activity of novel selenoester derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 73, p. 153–66, fev. 2014.

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961.

FANG, L. et al. Design and synthesis of tacrine-ferulic acid hybrids as multi-potent anti-Alzheimer drug candidates. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 2905–2909, 2008.

FENG, Y.; WANG, X. Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2012, p. 472932, jan. 2012.

FERNÁNDEZ-BACHILLER, M. I. et al. New tacrine-4-oxo-4H-chromene hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease, with cholinergic, antioxidant, and β -

amyloid-reducing properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 1303–1317, 2012.

FIGUEIRÓ, F. et al. A monastrol-derived compound, LaSOM 63, inhibits ecto-5'nucleotidase/CD73 activity and induces apoptotic cell death of glioma cell lines. **Anticancer research**, v. 34, n. 4, p. 1837–42, abr. 2014.

FLOHE, L.; GUNZLER, W. A.; SCHOCK, H. H. GLUTATHIONE PEROXIDASE: A SELENOENZYME. **FEBS LETTERS**, p. 32–34, 1973.

FOURNIÈRE, V.; CUMPSTEY, I. Synthesis of non-glycosidically linked selenoether pseudodisaccharides. **Tetrahedron Letters**, v. 51, n. 16, p. 2127–2129, 2010.

FRANCIS, P. T. et al. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease : a review of progress. p. 137–147, 1999.

GANGWAR, N.; KASANA, V. K. 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-one derivatives: Organocatalysed microwave assisted synthesis and evaluation of their antioxidant activity. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 12, p. 4506–4511, fev. 2012.

GARTNER, M. et al. Development and biological evaluation of potent and specific inhibitors of mitotic Kinesin Eg5. **Chembiochem : a European journal of chemical biology**, v. 6, n. 7, p. 1173–7, jul. 2005.

GAUTHIER, S. et al. Efficacy of Donepezil on Behavioral Symptoms in Patients With Moderate to Severe Alzheimers Disease. **International Psychogeriatrics**, v. 14, n. 4, p. 389–404, 2002.

GELDENHUYS, W. J. et al. The emergence of designed multiple ligands for neurodegenerative disorders. **Progress in Neurobiology**, v. 94, n. 4, p. 347–359, 2011.

GERZSON, M. F. B. et al. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of α -(phenylselenanyl) acetophenone in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 102, n. 1, p. 21–29, 2012.

GHASSEMIAN, A. et al. Solid phase synthesis of peptide-selenoesters. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 21, n. 12, p. 3473–3478, jun. 2013.

GHOSH, P. et al. Effects of organoselenium compound 2-(5-selenocyanatopentyl)- benzo[de]isoquinoline 1,3-dione on cisplatin induced nephrotoxicity and genotoxicity: An investigation of the influence of the compound on oxidative stress and antioxidant enzyme system. **BioMetals**, v. 26, n. 1, p. 61–73, 2013.

GLASER, V. et al. Protective effects of diphenyl diselenide in a mouse model of brain toxicity. **Chemico-biological interactions**, v. 206, n. 1, p. 18–26, out. 2013.

GODOI, G. L. et al. Selenium compounds prevent amyloid β -peptide neurotoxicity in rat primary hippocampal neurons. **Neurochemical research**, v. 38, n. 11, p. 2359–63, nov. 2013.

GODOI, M. et al. Synthesis of selenol esters from diorganyl diselenides and acyl chlorides under solvent-free conditions and microwave irradiation. **Green Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 456, 2012.

GROTTO, D. et al. IMPORTANCE OF THE LIPID PEROXIDATION BIOMARKERS AND METHODOLOGICAL ASPECTS FOR MALONDIALDEHYDE QUANTIFICATION. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 169–174, 2009.

HARDY, J.; SELKOE, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to

therapeutics. **Science (New York, N.Y.)**, v. 297, n. July, p. 353–356, 2002.

HASSAN, W. et al. Modulation of diorganoyl dichalcogenides reactivity by non-bonded nitrogen interactions. **Chemico-Biological Interactions**, v. 199, n. 2, p. 96–105, 2012.

HE, C.; QIAN, X.; SUN, P. Syntheses of thiol and selenol esters by oxidative coupling reaction of aldehydes with RYYR (Y = S, Se) under metal-free conditions. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 12, n. 32, p. 6072–5, ago. 2014.

HODGSON, H. H.; WARD, E. R. Rapid preparation of a solution of sodium hydrogen sulphide. **Journal of the Chemical Society**, v. 2, p. 242, fev. 1948.

IBRAHIM, M. et al. 1-(2-(2-(2-(1-Aminoethyl)phenyl)diselanyl)phenyl)ethanamine: An amino organoselenium compound with interesting antioxidant profile. **Toxicology in Vitro**, v. 28, n. 4, p. 524–530, 2014.

INOUE, T. et al. Synthesis of Thiol, Selenol, and Tellurol Esters from Aldehydes by the Reaction with *i*-Bu₂AIYR (Y = S, Se, Te). **The Journal of Organic Chemistry**, v. 59, p. 5824–5827, 1994.

IWAOKA, M.; TOMODA, S. A Model Study on the Effect of an Amino Group on the Antioxidant Activity of Glutathione Peroxidase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, p. 2557–2561, 1994.

KAPPE, C. O. Review Biologically active dihydropyrimidones of the Biginelli-type — a literature survey. **European journal of medicinal chemistry**, v. 35, p. 1043–1052, 2000.

KAPPE, C. O.; STADLER, A. The Biginelli Dihydropyrimidine Synthesis. **Organic Reactions**, v. 63, 2004.

KAUFER, D. I.; CUMMINGS, J. L.; CHRISTINE, D. Effect of tacrine on behavioral symptoms in Alzheimer's disease: an open-label study. **Journal of geriatric psychiatry and neurology**, v. 9, p. 1–6, 1996.

KAVANAGH, S. et al. Galantamine and behavior in Alzheimer disease: Analysis of four trials. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 124, p. 302–308, 2011.

KAWAI, Y. et al. A Facile Method for -Selenoglycoside Synthesis Using -p-Methylbenzoyl Selenoglycoside as the Selenating Unit. **Organic letters**, v. 7, n. 21, p. 4653–4656, 2005.

KLEIN, E. et al. New chemical tools for investigating human mitotic kinesin Eg5. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 15, n. 19, p. 6474–88, out. 2007.

KOKETSU, M.; ASADA, H.; ISHIHARA, H. SYNTHESIS OF SELENOL ESTERS USING ACYL HALIDES AND A NOVEL SELENATING REAGENT, LiAlHSeH. **Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements**, v. 179, n. February 2015, p. 591–595, 2004.

KOLOSOF, M. A. et al. A chemical placebo: NaCl as an effective, cheapest, non-acidic and greener catalyst for Biginelli-type 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones (-thiones) synthesis. **Molecular Diversity**, v. 13, n. 1, p. 5–25, 2009.

KRYUKOV, G. V et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. **Science (New York, N.Y.)**, v. 300, n. 5624, p. 1439–43, maio 2003.

LEBED', P. S. et al. Synthesis of new polyfunctional 5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-c]pyrimidin-5-ones by the aza-Wittig reaction followed by intramolecular cyclization and 1,3-prototropic shift. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 921–927, 2009.

LIU, J.-C. et al. Syntheses of selenoesters through C–H selenation of aldehydes with diselenides under metal-free and solvent-free conditions. **RSC Adv.**, v. 4, n. 78, p. 41237–41244, ago. 2014.

LOEF, M.; SCHRAUZER, G. N.; WALACH, H. Selenium and Alzheimer's disease: a systematic review. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 26, n. 1, p. 81–104, jan. 2011.

LUO, Z. et al. Synthesis and evaluation of multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease based on the fusion of donepezil and ebselen. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 22, p. 9089–9099, 2013.

LUO, Z. et al. Synthesis and biological evaluation of a new series of ebselen derivatives as glutathione peroxidase (GPx) mimics and cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 4, p. 1355–1361, 2014.

MACCIONI, R. B. et al. The Revitalized Tau Hypothesis on Alzheimer's Disease. **Archives of Medical Research**, v. 41, p. 226–231, 2010.

MANSOURI, M. et al. Synthesis and antioxidant evaluation of 4- (furan-2-yl) -6-methyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate esters. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 4, p. 257–264, 2012.

MARIN, G. et al. Efficient synthesis of selenol esters from acid chlorides mediated by indium metal. **Tetrahedron**, v. 65, n. 23, p. 4614–4618, jun. 2009.

MARKESBERY, W. R. OXIDATIVE STRESS HYPOTHESIS IN ALZHEIMER ' S DISEASE. **Free radical biology & medicine**, v. 23, n. 1, p. 134–147, 1997.

MAYER, T. U. Small Molecule Inhibitor of Mitotic Spindle Bipolarity Identified in a Phenotype-Based Screen. **Science**, v. 286, n. 5441, p. 971–974, out. 1999.

MEOTTI, F. C. et al. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. **Environmental Research**, v. 94, p. 276–282, 2004.

MESHRAM, H. M. et al. Zinc Promoted Convenient and General Synthesis of Thiol Esters. **Synlett**, v. 1998, n. 8, p. 877–878, ago. 1998.

MINOTTI, G.; AUST, S. D. An investigation into the mechanism of citrate- Fe^{2+} -dependent lipid peroxidation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 3, p. 379–387, 1987.

MUSTACICH, D.; POWIS, G. Thioredoxin reductase. **The Biochemical journal**, v. 346 Pt 1, p. 1–8, mar. 2000.

NAM, T. G. Lipid peroxidation and its toxicological implications. **Toxicological Research**, v. 27, n. 1, p. 1–6, 2011.

NASCIMENTO, V. et al. Synthesis and biological evaluation of new nitrogen-containing diselenides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 87, p. 131–139, 2014.

NISHIYAMA, Y. et al. Phenyl tributylstannyl selenide as a promising reagent for introduction of the phenylseleno group. **The Journal of organic chemistry**, v. 68, n. 9, p. 3599–602, maio 2003.

OBULESU, M.; VENU, R.; SOMASHEKHAR, R. Lipid peroxidation in Alzheimer's disease: emphasis on metal-mediated neurotoxicity. **Acta neurologica Scandinavica**, v. 124, n. 5, p. 295–301, nov. 2011.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351–358, 1979.

OLABINRI, B. M. et al. Evaluation of chelating ability of aqueous extract of *Tetracarpidium conophorum* (African walnut) in vitro. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 3, n. 3, p. 13–18, 2010.

ORIAN, L.; TOPPO, S. Organochalcogen peroxidase mimetics as potential drugs: a long story of a promise still unfulfilled. **Free radical biology & medicine**, v. 66, p. 65–74, jan. 2014.

PINTON, S. et al. Organoselenium improves memory decline in mice: involvement of acetylcholinesterase activity. **Neuroscience letters**, v. 472, n. 1, p. 56–60, mar. 2010.

PINTON, S. et al. Neuroprotector effect of p,p'-methoxyl-diphenyl diselenide in a model of sporadic dementia of Alzheimer's type in mice: contribution of antioxidant mechanism. **Cell biochemistry and function**, v. 29, n. 3, p. 235–43, abr. 2011.

PINTON, S. et al. Therapeutic effect of organoselenium dietary supplementation in a sporadic dementia of Alzheimer's type model in rats. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 311–7, jan. 2013a.

PINTON, S. et al. p,p'-Methoxyl-diphenyl diselenide protects against amyloid- β induced cytotoxicity in vitro and improves memory deficits in vivo. **Behavioural brain research**, v. 247, p. 241–7, jun. 2013b.

POSSER, T. et al. Diphenyl diselenide confers neuroprotection against hydrogen peroxide toxicity in hippocampal slices. **Brain research**, v. 1199, p. 138–47, mar. 2008.

PRASHANTHA KUMAR, B. R. et al. Novel Biginelli dihydropyrimidines with potential anticancer activity: a parallel synthesis and CoMSIA study. **European journal of medicinal chemistry**, v. 44, n. 10, p. 4192–4198, out. 2009.

RAMPON, D. S. et al. Novel selenoesters fluorescent liquid crystalline exhibiting a rich phase polymorphism. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 715, 2010.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1256–68, mar. 2012.

REN, K. et al. Iron-Catalyzed Synthesis of Selenoesters from Diselenides and Acyl Chlorides or Acid Anhydrides in the Presence of Magnesium Dust. **Synthesis**, v. 2010, n. 07, p. 1078–1082, jan. 2010.

RODRÍGUEZ-FRANCO, M. I. et al. Novel tacrine-melatonin hybrids as dual-acting drugs for alzheimer disease, with improved acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 459–462, 2006.

ROSINI, M. et al. Rational approach to discover multipotent anti-Alzheimer drugs. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, p. 360–363, 2005.

ROSSATO, J. I. et al. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. **Neurochemical Research**, v. 27, n. 4, p. 297–303, 2002.

RUSSOWSKY, D. et al. Synthesis and differential antiproliferative activity of Biginelli compounds against cancer cell lines: Monastrol, oxo-monastrol and oxygenated analogues. **Bioorganic chemistry**, v. 34, n. 4, p. 173–82, ago. 2006.

SANDHU, J. S. Past , present and future of the Biginelli reaction : a critical perspective. v. 2012, n. i, p. 66–133, 2012.

SANTI, C. et al. Selenium Containing Compounds from Poison to Drug Candidates: A Review on the GPx-like Activity. **Current Chemical Biology**, v. 7, n. 1, p. 25–36, abr. 2013.

SCHWAB, R. S.; SCHNEIDER, P. H. Straightforward synthesis of non-natural chalcogen peptides via ring opening of aziridines. **Tetrahedron**, v. 68, n. 51, p. 10449–10455, 2012.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. SELENIUM AS AN INTEGRAL PART OF FACTOR 3 AGAINST DIETARY NECROTIC LIVER DEGENERATION. **Journal of the American Chemical Society**, p. 3292 – 3293, 1957.

SHARGHI, H.; JOKAR, M. Al₂O₃/MeSO₃H: A Novel and Recyclable Catalyst for One-Pot Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidinones or Their Sulfur Derivatives in Biginelli Condensation. **Synthetic Communications**, v. 39, p. 958–979, 2009a.

SHARGHI, H.; JOKAR, M. Al₂O₃/MeSO₃H: A Novel and Recyclable Catalyst for One-Pot Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidinones or Their Sulfur Derivatives in Biginelli Condensation. **Synthetic Communications**, v. 39, n. 6, p. 958–979, fev. 2009b.

SHARPLESS, K. B.; LAUER, R. F.; TERANISHI, A. Y. Electrophilic and Nucleophilic Organoselenium Reagents. New Routes to α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds. **Journal of the American Chemical Society**, v. 95, n. 18, p. 6137–6139, 1973.

SILVEIRA, C. C.; BRAGA, A. L.; LARGHI, E. L. Synthesis of Thiol, Selenol, and Tellurol Esters by the Reaction of

Organochalcogeno Mercurials with Acid Chlorides.
Organometallics, v. 18, n. 24, p. 5183–5186, nov. 1999.

SMITH, B. R.; EASTMAN, C. M.; NJARDARSON, J. T.
Beyond C, H, O, and N! Analysis of the Elemental
Composition of U.S. FDA Approved Drug Architectures.
Journal of medicinal chemistry, v. 57, p. 9764–9773, 2014.

SOARES, L. C. et al. Ephedrine-based diselenide: a
promiscuous catalyst suitable to mimic the enzyme glutathione
peroxidase (GPx) and to promote enantioselective C-C
coupling reactions. **Organic & biomolecular chemistry**, v.
10, n. 32, p. 6595–9, ago. 2012.

SRIVASTAVA, V. An Improved Protocol for
Dihydropyrimidines Synthesis. **National Academy Science
Letters**, v. 36, n. 5, p. 493–495, out. 2013.

STEFANI, H. A et al. Dihydropyrimidin-(2H)-ones obtained by
ultrasound irradiation: a new class of potential antioxidant
agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 41, n.
4, p. 513–518, abr. 2006.

TAKEI, T. et al. Model study using designed selenopeptides
on the importance of the catalytic triad for the antioxidative
functions of glutathione peroxidase. **Journal of Physical
Chemistry B**, v. 118, n. 2, p. 492–500, 2014.

TAYLOR, R. D.; MACCOSS, M.; LAWSON, A. D. G. Rings in
drugs. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 14, p.
5845–5859, 2014.

TOWNSEND, D. S. et al. Advances in Proline Ligation.
Journal of the American Chemical Society, v. 134, p. 3912
– 3916, 2012.

TRON, G. C.; MINASSI, A.; APPENDINO, G. Pietro Biginelli: The Man Behind the Reaction. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2011, n. 28, p. 5541–5550, out. 2011.

VASCONCELOS, A. DE et al. Antioxidant Capacity and Environmentally Friendly Synthesis of Dihydropyrimidin- (2H) -ones Promoted by Naturally Occurring Organic Acids. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 26, n. 4, p. 155–161, 2012.

WANG, Z. et al. Design, Synthesis, and Evaluation of Multitarget-Directed Selenium- Containing Clioquinol Derivatives for the Treatment of Alzheimer's Disease. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 5, p. 952 – 962, 2014.

WIMO, A.; WINBLAD, B.; JÖNSSON, L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. **Alzheimer's and Dementia**, v. 6, n. 2, p. 98–103, 2010.

YOSHIMOTO, N. et al. Design and characterization of a selenium-containing inhibitor of activated thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFIa), a zinc-containing metalloprotease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 7696–7705, 2012.

YOUSSEF, M. M.; AMIN, M. A. Microwave assisted synthesis of some new thiazolopyrimidine, thiazolodipyrimidine and thiazolopyrimidothiazolopyrimidine derivatives with potential antioxidant and antimicrobial activity. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 8, p. 9652–9667, jan. 2012.

ZAMBERLAN, D. C. et al. Diphenyl-diselenide suppresses amyloid- β peptide in *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease. **Neuroscience**, v. 278, p. 40–50, out. 2014.

ZHI, H. et al. 6-acetyl-5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidine derivatives as the novel acetylcholinesterase inhibitors: design, synthesis,

and biological activity. **Medicinal chemistry**, v. 9, n. 5, p. 703–9, ago. 2013.